

**Studien zur
Chromatophorenbewegung der Braunalge
DICTYOTA DICHOTOMA**

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

im

Fachbereich Biologie

der

Philipps-Universität Marburg/Lahn

Vorgelegt von

Jürgen Pfau

aus Düsseldorf

Marburg/Lahn 1974



**Studien zur
Chromatophorenbewegung der Braunalge
DICTYOTA DICHOTOMA**

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

im

Fachbereich Biologie

der

Philipps-Universität Marburg/Lahn

Vorgelegt von

**Jürgen Pfau
aus Düsseldorf**

Marburg/Lahn 1974



Vom Fachbereich Biologie der Philipps-Universität
Marburg/Lahn als

Dissertation angenommen am: 1. 2. 1974

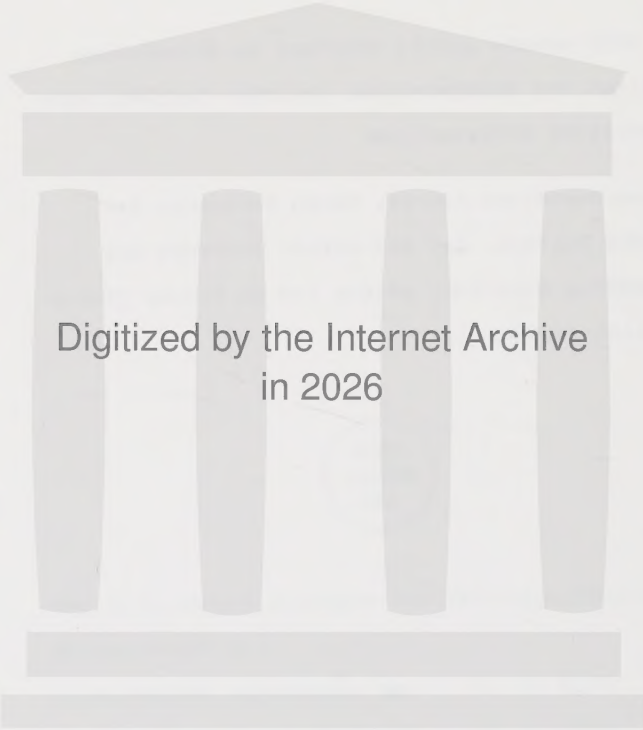
Tag der mündlichen Prüfung: 18. 2. 1974

Berichterstatter: Prof. Dr. W. Nultsch

Mitberichterstatter: Prof. Dr. G. Throm

Die vorliegende Arbeit entstand am Botanischen
Institut des Fachbereiches Biologie der Philipps-
Universität Marburg/Lahn.

Meinem verehrten Lehrer, Herrn Professor Dr.
Wilhelm Nultsch, der die Arbeit betreute und
tatkräftig förderte, möchte ich an dieser Stelle
herzlich danken.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

I N H A L T

I. Einleitung	1
II. Objekt und Anzucht	6
III. Untersuchungsmethoden	16
1. Durchfluß-Küvette	16
2. Durchfluß-System	20
3. Das Optische System	22
4. Filterwechsel-Automatik	33
5. Photometer-Elektronik	36
5.1 Block-Diagramm	36
5.2 Doppel-Netzgerät $\pm$ 15 Volt	39
5.3 Signal Verarbeitung	39
5.4 Strom-Kompensation	44
5.5 Schreiber-Bereichs-Automatik	47
6. Systemstabilität	51
7. Messung der Beleuchtungsstärke im Präparat	53
IV. Ergebnisse	56
1. Untersuchungen zur Chromatophorenbewegung von Dictyota bei unterschiedlichen Beleuchtungsstärken.	56
1.1 Charakterisierung der Dunkel-, Schwachlicht- und Starklicht-Lage.	56
1.2 Grundsätzliche Untersuchungen zum Bewegungsablauf der Chromatophorenverlagerung im Starklicht und im Schwachlicht.	58
1.21 Qualitative Darstellung des Phänomens.	58
1.22 Quantitative Untersuchungen zum Bewegungsablauf im Starklicht und im Schwachlicht.	64
1.23 Langzeit-Versuche zur Chromatophorenbewegung unter einem konstanten Schwachlicht-/Starklicht-Wechsel	70

1.3 Untersuchungen zur Dosis-Effekt- Abhängigkeit im Weißlicht.	76
1.31 Untersuchungen zur Abhängigkeit der Chromatophorenverlagerung von der Starklicht-Beleuchtungsstärke im pe- riodischen Wechsel mit einer konstan- ten Schwachlicht-Beleuchtungsstärke.	77
1.32 Untersuchungen zur Abhängigkeit der Chromatophorenverlagerung von der Schwachlicht-Beleuchtungsstärke im pe- riodischen Wechsel mit einer konstanten Starklicht-Beleuchtungsstärke.	84
2. Untersuchungen zur Reiz-Beantwortung bei ge- ringen Unterschieden der Beleuchtungsstärke.	86
2.1 Iterative Änderung der Beleuchtungsstär- ke vom Schwachlicht zum Starklicht.	86
2.2 Iterative Änderung der Beleuchtungsstär- ke vom Starklicht zum Schwachlicht.	90
2.3 Bestimmung der Unterschiedsschwelle für Änderungen der Beleuchtungsstärke im Maximum der Reizbeantwortung.	93
3. Beobachtung circadian-rhythmischer Phänomene bei der Chromatophorenbewegung von Dictyota.	98
3.1 Bewegungsablauf der Chromatophorenverla- gerung bei unter tagesperiodisch wechseln- den Lichtbedingungen angezogenen Kulturen. Messungen in einem periodischen Schwach- licht-/Starklicht-Wechsel.	99
3.2 Bewegungsablauf der Chromatophorenverla- gerung in unter Dauerlicht kultiviertem Versuchsmaterial.	108
3.3 Induktion der circadianen Rhythmik bei Dictyota.	113

3.31 Induktion der circadianen Rhythmik durch Licht-Dunkel-Wechsel.	114
3.32 Induktion der circadianen Rhythmik durch einen Temperatursprung.	120
4. Besonderheiten im Reaktionsablauf der Chromatophorenbewegung bei Dictyota.	123
4.1 Beeinflussung der Chromatophorenbewe- gung durch Dunkelphasen.	123
4.2 Besonderheiten im Bewegungsablauf der Starklichtreaktion.	126
V. Diskussion	128
VI. Zusammenfassung	135
VII. Literatur	137

I. Einleitung

Erste Untersuchungen zur lichtinduzierten Verlagerung von Chromatophoren wurden bereits um die Mitte des vorigen Jahrhunderts von BÖHM (1856, 1863) durchgeführt. Im Jahre 1908 gab SENN einen Überblick über die bis dahin bekannten Ergebnisse, ergänzt durch eine Fülle eigener Befunde. Hier, wie auch in den Arbeiten von KÜSTER (1905, 1906, 1910) wird bereits das Vorkommen einer Chromatophorenbewegung in Meeresalgen nachgewiesen.

Erst in den letzten 10 - 20 Jahren fand die Bewegungsphysiologie der Chromatophoren wieder stärkere Beachtung. Dabei konzentrierte sich das Interesse jedoch hauptsächlich auf Moose, Farne und höhere Pflanzen einerseits und die Süßwasseralgen Mougeotia und Vaucheria andererseits (HAUPT u. SCHÖNFELD 1962; HAUPT 1963, 1965; HAUPT u. GÄRTNER 1966; HAUPT u. WEISENSEEL 1967; HAUPT u. SCHÖNBOHM 1970; SCHÖNBOHM 1963; ZURZYCKI 1960; ZURZYCKI u. LELATKO 1969).

Über die Chromatophorenbewegung bei marinen Algen ist hingegen bisher wenig bekannt.

Bei den Untersuchungen zur Chromatophorenbewegung ist die Methodik, mit der eine Maßzahl für die Verlagerung gefunden wird, von großer Wichtigkeit. Kritische Beiträge hierzu sind bei ZURZYCKI (1961), insbesondere aber in der Zusammenfassung von HAUPT (1959) zu finden. Nach HAUPT stehen im wesentlichen zwei Wege offen:

1. In der direkten Methode wird die Maßzahl durch mikroskopische Auswertung, d.h. durch Auszählen der jeweils in einer bestimmten Lage befindlichen Chromatophoren gewonnen.

2. Die indirekte Methode (zuerst von BIEHL (1954, 1955) eingesetzt) bestimmt die Größe der durch die Plastidenbewegung verursachten Änderung der Absorption bzw. Transmission, wobei zur Auswertung photographische oder photometrische Verfahren herangezogen werden können.

In der Diskussion dieser beiden Methoden räumt HAUPT zwar ein, daß "die indirekte Methode den Vorteil der Einfachheit und Schnelligkeit hat" und die Möglichkeit bietet, über die Reaktion der Chromatophoren in vielen Zellen zu integrieren; jedoch gibt er der direkten Methode den Vorzug, da diese zwar "mühsamer, aber ohne Zweifel sehr viel exakter ist, und außer einem Mittelwert (bei der Auswertung hinreichend vieler Zellen) zugleich einen Begriff über das Ausmaß der Streuung geben kann."

Unter dem Aspekt der damals zur Verfügung stehenden technologischen Möglichkeiten sind die Folgerungen von HAUPT sicher richtig. Heute ist diesen jedoch nur noch bedingt Gültigkeit zuzumessen; moderne Entwicklungen auf den Gebieten der Photometrie, Optoelektronik und insbesondere auf dem Gebiet der Halbleiterelektronik erschließen eine solche Fülle von neuen Möglichkeiten, die die indirekte Methode den direkten Methoden über-

legen machen können. Dieses gilt besonders dann, wenn (wie es im Rahmen dieser Untersuchungen möglich war) die indirekte Messung der Transmissionsänderung zugleich durch die direkte Beobachtung der Chromatophoren-Verlagerung kontrolliert werden kann. Andererseits läßt sich z.B. durch die Verwendung spezieller Photoempfänger mit sehr kleiner aktiver Fläche ($20/1000 \text{ mm}^2$) sehr wohl eine Untersuchung über das Ausmaß der Streuung durchführen, wenn mehrere Zellbereiche in dem Thallus "abgefahren" werden.

Große Vorteile gegenüber der direkten Methode bringt zweifellos das von ZURZYCKA und ZURZYCKI (1953, 1957) verwendete cinematographische Verfahren mit sich; die Auswertung des Filmes sollte allerdings densitometrisch erfolgen, um subjektive Fehler zu vermeiden. Zum anderen ist diese Methode in ihrer Auflösung durch die Gradation des Filmes begrenzt und versagt völlig bei Untersuchungen mit sehr geringen Bestrahlungs- und Aufnahme-Intensitäten.

In einer ausführlichen Arbeit greift ZURZYCKI (1961) noch einmal die Diskussion über das indirekte Verfahren auf und kommt zu dem Schluß, daß dieses für eine exakte Bestimmung der Verlagerung nur bedingt geeignet sei. Es steht außer Frage, daß diese Berechnungen und Messungen, die an dieser Stelle nicht näher diskutiert werden können, unter den genannten Bedingungen gültig sind. Dennoch wird in der vorliegenden Arbeit gezeigt, daß unter

bestimmten Voraussetzungen und geänderten Versuchsbedingungen das indirekte Verfahren exaktere Ergebnisse als das direkte Verfahren zeitigt. Im einzelnen sind hier zu nennen:

a) Art und Aufbau des verwendeten Untersuchungsobjektes

Um eine Veränderung der Plastiden photometrisch zu erfassen, sollte aus Gründen der Lichtstreuung und Eigenabsorption der Thallus möglichst dünn, im besten Falle einschichtig sein. Der hier verwendete dreischichtige Dictyota Thallus, in dem sich die überwiegende Anzahl der Phaeoplasten, und damit die Hauptabsorption auf zwei Schichten beschränkt, kommt diesem Idealfall sehr nahe.

b) Spektrale Abhängigkeit der Transmissionsänderung

Bei monochromatischen Experimenten müssen kritische Voruntersuchungen die Fragen der Zuordnung von Bewegungs- und Gestaltsveränderungen zur spektralen Absorptionsänderung klären. In dieser Arbeit stellt sich dieses Problem noch nicht, da zunächst das Bewegungsverhalten der Chromatophoren im Weißlicht konstanter spektraler Zusammensetzung untersucht wird.

c) Simultaner Einsatz der direkten und indirekten Methode

Das indirekte Verfahren vermag nicht, Veränderungen der Plastiden nach Lageveränderung und Gestaltsveränderung (Kontraktion, Schwellung) zu trennen. Wenn jedoch der experimentelle Aufbau die Möglichkeit bietet, die Trans-

missionsänderung durch eine gleichzeitige visuelle Kontrolle im Mikroskop mit der Verlagerung selbst zu korrelieren, eine Gestaltsveränderung somit ausgeschlossen werden kann, so muß dem indirekten Verfahren der Vorzug gegeben werden.

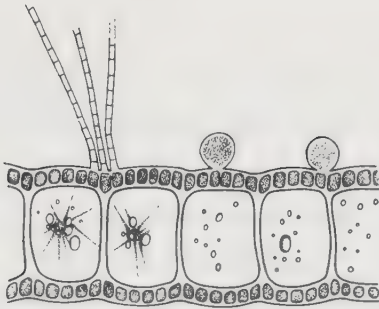
Ein weiterer wichtiger Gesichtspunkt bei der Anwendung physikalischer Meßmethoden auf Lebendmaterial ist, daß einerseits zur Verminderung individueller Streuungen ein und dasselbe Objekt möglichst lange einer Versuchsserie dienen soll, daß aber andererseits die Umgebungsbedingungen (Licht, Temperatur, Nährstoff- und Gasaustausch) des Objektes noch in quasi-natürlichen Grenzen gehalten werden. Die von früheren Autoren durchgeführten Versuche mit Hilfe von Objektträgerpräparaten (HAUPT 1965, 1966a; MAYER 1964; ZURZYCKI 1967, 1968, 1972), in denen sich die Außenfaktoren -zu nennen sind hierbei insbesondere die Gasspannung und die Temperatur- sehr rasch ändern, führten zu unbefriedigenden Resultaten. Aus diesen Gründen wurde für die hier geschilderten Versuche ein Objekt gewählt, für welches Wasser ein natürliches Medium darstellt. Darüberhinaus wurde ein Durchflußsystem entwickelt, in dem das Untersuchungsobjekt über längere Zeit unter physiologischen Bedingungen gehalten werden kann.

II. Objekt und Anzucht

Als Material für die hier dargestellten Untersuchungen wurde die Braunalge *Dictyota dichotoma* Lamour. verwendet. Der Thallus dieser Alge ist bandförmig, flach und besitzt eine hellbraune Färbung. Als Pigmente enthalten die Chromatophoren vor allem Chlorophyll a, β -Carotin, sowie eine Anzahl von Xanthophyllen, von denen insbesondere das braune Fucoxanthin die übrigen Farbstoffe überdeckt. Chlorophyll c ist nur in geringen Konzentrationen vorhanden (STRASBURGER 1971). An natürlichen Standorten erreicht die Alge eine Länge von bis zu 30 Zentimetern, während das kultivierte Material Längen von durchschnittlich 5 - 8 cm aufwies.

Der Thallusaufbau ist dreischichtig: eine Innenschicht größerer Speicherzellen ist auf beiden Seiten mit einer Schicht aus kleinen Zellen, die in Thallus-Längsrichtung verlaufende Reihen bilden, bedeckt. Die Chromatophoren sind überwiegend in den Zellen der Außenschichten enthalten. Beide Thallusseiten sind mit Büscheln von Haaren besetzt (Abb. 1).

Erste qualitative Bewegungsstudien und apparative Tests wurden an Freilandmaterial, das in Tauchgängen von der Südwest-Seite Helgolands gesammelt wurde, durchgeführt. Die Beschaffung von Freilandmaterial bereitete insofern Schwierigkeiten, als im deutschen Nordseeraum und speziell in Helgoland diese Alge, wenn überhaupt, meist erst ab Juli/August zu beobachten ist. Es ist zu vermu-



DICTYOTA DICHOTOMA
THALLUS-QUERSCHNITT

Abb. 1: Thallus-Querschnitt der Braunalge *Dictyota dichotoma*. Die äußeren Assimilationszellen umschließen die inneren Speicherzellen. (Vergrößerung ca. 200-fach)

ten, daß weniger die Lichtbedingungen als die Wassertemperatur der begrenzende Faktor für das Vorkommen der Alge ist. Versuche, dieses Freilandmaterial in einem Kulturbecken, welches mit durchfließendem Seewasser gespeist wurde, weiterzukultivieren, schlugen nach anfänglichen Erfolgen fehl: nach einem üppigen Wachstum durch den ganzen September bis Mitte Oktober hindurch verlangsamte sich die Wachstumsrate so sehr, daß die Algen bald von Diatomeen überwachsen wurden und für Versuche nicht mehr brauchbar waren. Diese Erfahrungen, sowie Beobachtungen an Kulturmateriel lassen darauf schließen, daß neben dem Einfluß der Wassertemperatur noch eine offensichtlich vorhandene jahresrhythmische Änderung im

Nährstoffgehalt des Meerwassers die Wachstumsrate der Algen beeinflusst.

Die im folgenden gegebenen quantitativen Daten wurden ausschließlich aus Messungen an Kulturmateriel gewonnen, welches aus einer unialgalen Kultur von P. H. Sahling, Biologische Anstalt, Helgoland, stammt. Auch bei diesem Material bereitete es anfänglich einige Schwierigkeiten, in den Kulturen genügend große, nicht fruktifizierende Thalli ausreichenden Pigmentgehaltes zu erhalten. Kulturversuche in Glasdosen von 400 ml Fassungsvermögen unter Leuchtstofflampenlicht (was z.B. für die Braunalge *Laminaria saccharina* sehr gute Ergebnisse erbrachte) schlugen fehl. Wesentlich bessere Erfolge wurden mit "Belüftungskulturen" erzielt: Zylindrische Gefäße mit 2 l Fassungsvermögen werden mit Nährlösung und kleinen Mengen Kulturmateriel beschickt. Die Gefäße werden vom Boden her beleuchtet und ständig mit Hilfe einer Aquarienpumpe belüftet. Die Luft wird zunächst durch ein Wattefilter gepreßt und im Kulturmedium mittels eines Sprudelsteines fein verteilt. Für die Kultur ist damit ein optimaler Gas- und Nährstoffwechsel gegeben. Zudem scheint für manche Meeresalgen - und darunter auch *Dictyota dichotoma* - die Eigenbewegung und die damit verbundene allseitige Beleuchtung wachstumsfördernd zu wirken.

Als Kulturmedium diente Seewasser, nach Schreiber modifiziert. Das Seewasser wurde zunächst grob gefiltert, sodann 30 Minuten auf ca. 70° - 80°C erhitzt und mit

den folgenden Zusätzen versehen (v. STOSCH u. DREBES 1964):

<u>Stammlösungen</u>	<u>In 1 l. Nährlsg.</u>
MnCl ₂ : 9,89 mg/500 ml aqua bidest	1 ml
FeSO ₄ . 7 H ₂ O : 27,8 mg/100 ml a. bid. dazu 0,01 ml konz. H ₂ SO ₄	1 ml
Na ₂ HPO ₄ . 12 H ₂ O : 1,075 g/100 ml a. bid.	1 ml
NaNO ₃ : 4,25 g/100 ml a. bid.	1 ml
Na ₂ EDTA : 37,2 mg/100 ml a. bid.	10 ml

Tab. 1: Nährlösungsansatz für Dictyota-Kulturen

Außerdem wurden 5 ml einer Multivitamin-Mischung, die im wesentlichen der von MANTON u. v. STOSCH (1965) angegebenen entspricht, zugegeben. Die Zusammensetzung dieser Vitaminmischung ist in Tabelle 2 wiedergegeben.

Versuche mit verschiedenen hohen Beigaben dieser Mischung zeigten, daß höhere Konzentrationen eher wachstumshemmend als -beschleunigend wirken. Die Thalli wachsen bei hohen Vitaminkonzentrationen schlecht, krümmen sich und fangen bereits in jüngeren Wachstumsstadien an zu sporulieren.

Die Nährlösung wurde alle 14 Tage gewechselt.

Eingehende Tests wurden durchgeführt, um die für optimale Wachstumsbedingungen erforderliche Belichtung der Kultur zu bestimmen. Nach diesen Untersuchungen liegt das Wachstumsoptimum bei "Weißlicht"-Intensitäten

Vitamin-Mischung

<u>Stammlösungen</u>	<u>In 100 ml Lösung</u>
Inosit: 9 mg/100 ml a. bid.	1 ml
Folsäure: 4,4 mg/100 ml a. bid. dazu 2 ml NaHCO_3 von 1,68 g/100 ml	1 ml
Calcium Pantothenat: 9,5 mg/100 ml a. bid.	1 ml
Vit. B 12: 1,4 mg/100 ml a. bid.	1 ml
Vit. B 1 : 17,3 mg/100 ml a. bid.	1 ml
Biotin: 6,1 mg/50 ml a. bid.	1 ml
p-Aminobenzoësre.: 13,7 mg/100 ml a. bid.	1 ml
Pyridoxinhydrochlorid: 20,7 mg/100 ml a. bid.	1 ml
Nicotinsäureamid: 12,2 mg/500 ml a. bid.	1 ml
Rutin cryst.: 12,2 mg/40 ml a. bid. dazu 0,5 ml 0,1n NaOH	4 ml
Vit. B 2: 3,8 mg/100 ml a. bid.	2 ml
Ascorbinsre.: 8,8 mg/50 ml a. bid.	2 ml

Tab. 2: Multi-Vitamin-Mischung.

von ca. 500 bis 2.500 Lux. Höhere Intensitäten wirken schädigend oder haben ein Ausbleichen der Thalli zur Folge. Zum anderen wurde die Belichtung der Kulturen der entsprechenden Fragestellung angepaßt: Um für Studien an circadianen Rhythmen eine Induktion der endogenen Rhythmik unter möglichst natürlichen Bedingungen zu erreichen, wurden die Kulturen unter Tageslicht an einem Nord-Ost-Fenster angezogen. Der typische Verlauf der Beleuchtungsstärke an diesem Standort während eines Sonnentages wie an einem Regentag ist in den Abbildungen 2A und 2B wiedergegeben. Außerdem ist in der Abbildung 3

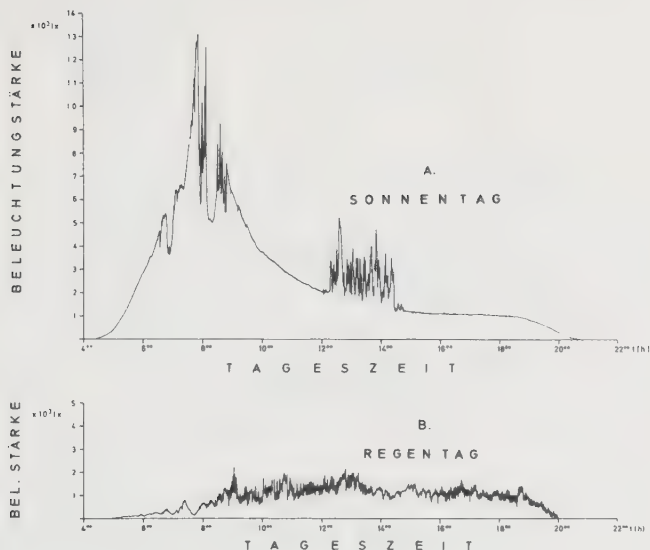


Abb. 2: Tageszeitliche Schwankungen der Beleuchtungsstärke am Standort der Kulturen. Die Messungen wurden im Juli an einem seewärts blickenden Nordost-Fenster in Helgoland durchgeführt. Diagramm A: Verlauf an einem Sonnentag. Die kurzzeitigen Schwankungen wurden durch Wolkenfelder und Reflexe von der Meeresoberfläche hervorgerufen. Diagramm B: Verlauf an einem Regentag.

die spektrale Energieverteilung des Tageslichts, aufgenommen mit dem Spektroradiometer SR/SRR (ISCO, Nebraska/USA), angegeben. Eine Betrachtung der dort herrschenden Temperaturverhältnisse zeigte, daß die thermischen Schwankungen denen der Beleuchtungsstärke ähnlich sind.

Diese Schwankungen sind im Kulturgefäß aufgrund der thermischen Masse der Kulturlösung reduziert und wurden mit $\pm 2 - 2,5^{\circ}\text{C}$ bei einer mittleren Temperatur von 20°C bestimmt.

Für nicht-tagesrhythmische Untersuchungen wurden die Kulturen unter einer konstanten Beleuchtung von 2.000 Lux angezogen, wobei als Lichtquelle ein Dia-Projektor, Typ "PRADO" (Leitz, Wetzlar), diente. Das Emissionsspektrum dieses Projektors, das in Abb. 3b wiedergegeben ist, kommt dem Tageslichtspektrum (Abb. 3a) nahe. Es muß dabei der steile Abfall im langwelligen Spektralbereich der Absorption eines KG-3 Filters im Strahlengang des Projektors sowie dem Kaltlichtreflektor zugeordnet werden, während die im Vergleich zum Tageslichtspektrum steilere Flanke im kurzwelligen Spektralbereich der Emissionscharakteristik der Lampe selbst zuzuschreiben ist.

Leuchtstofflampen, sowie Kombinationen verschiedener Farbtonqualitäten waren als Beleuchtung für die Kultur von Dictyota nicht geeignet. Der Grund hierfür ergibt sich bei der Betrachtung des Emissionsspektrums einer Leuchtstofflampe vom Typ "Cool-White" (Sylvania, Hannover) welches ebenfalls mittels des o.g. Spektroradiometers aufgenommen und berechnet wurde (Abb. 4). Vergleicht man dieses z.B. mit dem oben angegebenen Tageslicht- und Projektorspektrum, oder mit dem in Abb. 5 angegebenen in-vivo-Absorptionsspektrum von Dictyota (die Messung wurde mit dem Spektralphotometer vom Typ MPS-50 der Fa.

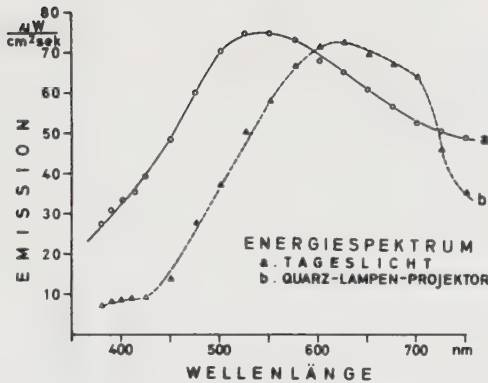


Abb. 3: Energiespektrum des Tageslichts (Sonnentag) an einem seewärts blickenden Nordostfenster (Diagramm a), sowie das Spektrum eines Quarzlampe-Projektors -Leitz "PRADO" (Diagramm b).

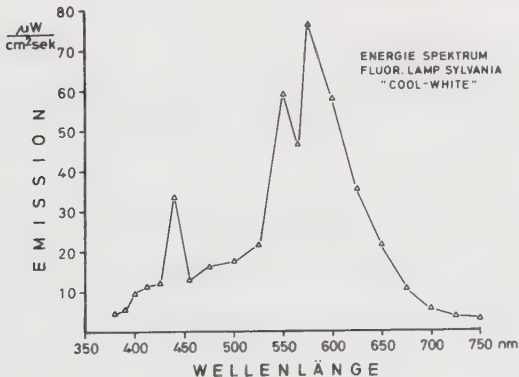


Abb. 4: Emissionsspektrum einer Fluoreszenz-Lampe vom Typ "Cool-White". Die Spektrallinien werden wegen der Meßbandbreite des verwendeten Spektroradiometers (12 nm) nicht genügend aufgelöst.

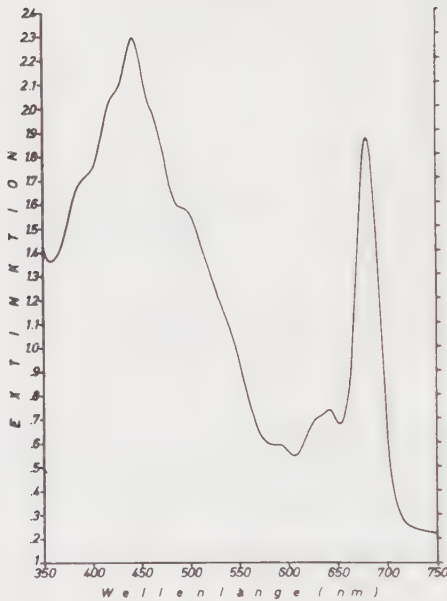


Abb. 5: In-vivo-Absorptionsspektrum der Braunalge *Dictyota dichotoma*.

Shimadzu, Japan, durchgeführt), so fällt die im Verhältnis zum langwelligen Spektralbereich sehr geringe Emission gerade im photosynthetisch wirksamen Blau/Grünbereich auf. Diese Beobachtung gilt, von gewissen Unterschieden abgesehen, für alle kommerziell erhältlichen Leuchtstofflampen, mit Ausnahme solcher, die für spezielle technische Anwendungen eine hohe UV-Emission aufweisen.

Wie noch weiter unten ausgeführt wird, wurden die Untersuchungen zur Plastidenbewegung bei einer Versuchstemperatur von 15°C durchgeführt. Bei dieser Temperatur ist die Sauerstoffentwicklung und die Wachstumsrate der Alge stark reduziert, und sie toleriert darüberhinaus einen längeren Aufenthalt in der Durchflußkivette (s.u.) ohne erkennbare Schädigungen. Das Temperaturoptimum bei der Kultur von *Dictyota* liegt jedoch bei 20°C . Da nun auch ein Wechsel der Temperatur am Objekt (von 20°C auf 15°C) eine Induktion der Tagesrhythmik zur Folge haben kann (vgl. BÜNNING 1963), wurden 20 Tage vor Versuchsbeginn die Dauerlicht-Kulturen in eine Klimakammer mit einer konstanten Temperatur von 15°C überführt; die übrigen Bedingungen blieben dagegen unverändert.

III. Untersuchungsmethoden

1. Durchflußküvette

Wie einleitend erwähnt, wurde die lichtinduzierte Plastidenverlagerung bisher überwiegend an Objektträgerpräparaten (SEITZ 1964, 1967, 1970; WEISENSEEL 1968a, 1968b) oder auch in Kapillar-Küvetten (HAUPT 1960) untersucht. Zwar verhindert die Umrandung solcher Präparate, wie bei HAUPT und HEYMANN (1967) beschrieben, ein Austrocknen während der Versuchsdauer, schafft jedoch gleichzeitig anaerobe Bedingungen. Der mangelnde Gasaustausch führt somit möglicherweise zu Zustandsänderungen oder Schädigungen im Objekt.

Für die Aufnahme von Aktionsspektren sowie für tagesperiodische oder gar lunarperiodische Untersuchungen ist es von größter Bedeutung, Messungen an ein und derselben Stelle des gleichen Objektes über lange Zeiträume durchzuführen. Es mußte also eine Methode entwickelt werden, die

1. das Objekt ständig mit Nährmedium versorgt und gleichzeitig den Gaswechsel gewährleistet,
 2. das Zellwachstum während der Versuchsdauer möglichst einschränkt,
 3. das Objekt räumlich fixiert und
 4. das Präparat optischen oder elektrischen Transmissionsmessungen unter einem Mikroskop zugänglich macht.
- Außerdem soll ein leichter und schneller Präparatwechsel

ermöglicht werden. Es wurde daher eine Durchflußküvette konstruiert, die diesen Forderungen weitgehend gerecht wird.

Die Küvette, deren Konstruktion in Abb. 6 dargestellt ist, besteht aus zwei Hälften. Der untere Küvettenteil

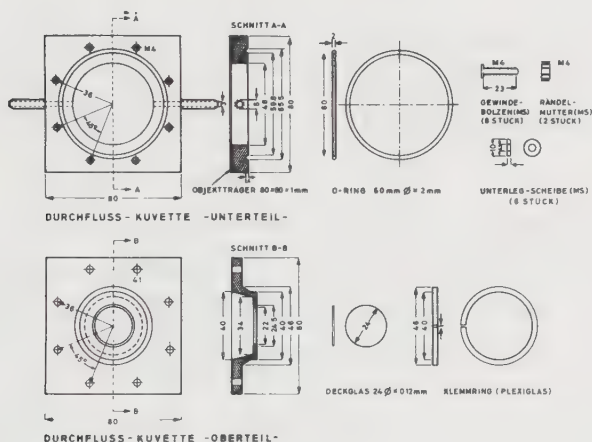


Abb. 6: Konstruktionszeichnung der Durchflußküvette. Unterteil: Aufsicht und Schnittbild. Oberteil: Aufsicht und Schnittbild. Montagezubehör: O-Ring, Bolzen, Rändelmutter und Unterlegscheibe, sowie Deckglas und Klemmring.

aus Plexiglas besitzt zwei Ansatzstutzen für den Nähr-lösungs-Zulauf und -Ablauf. Auf den Umfang verteilt sind vernickelte Messing-Gewindebolzen eingelassen und mit einem 2-Komponenten-Kleber (UHU-Plus, UHU-Werke, Bühl) dicht verklebt. Zur Abdichtung dieses Küvettenteils nach

außen wird ein Objektträgerglas, 80 x 80 x 1 mm ebenfalls mittels UHU-Plus aufgesetzt. Dieser Kleber ist nur bedingt wasserbeständig; daher ist für eine einwandfreie Klebung ein Aufrauhen des Küvettenbodens und des Objektträgers mit Diamantpaste wichtig. Zudem verhindern große fettfreie Klebeflächen langfristig ein Aufweichen des Klebers.

Der Küvetten-Oberteil, ebenfalls aus Plexiglas gefertigt, ragt in den Mittelteil der unteren Küvettenhälfte hinein. Die besondere Konstruktion des Oberteils ergibt sich aus der Bedingung der optimalen räumlichen Zuordnung von Kondensor, Präparat und Objektiv am Mikroskop. Bei Einstellung einer Beleuchtung nach Köhler z.B. kann auf diese Weise der Kondensor bis auf 2,5 mm an die Präparatenebene herangebracht werden.

Der obere Küvettenteil ist nach außen mit einem runden Deckglas von 24 mm Durchmesser abgeschlossen. Die Dichtung von Küvette und Deckglas geschieht mit Hilfe von Paraffin (Erweichungspunkt oberhalb 40° C). Das Objekt selbst wird unter dem Deckglas mittels einer sehr dünnen Cellophanfolie (Dicke ca. 0,05 mm) fixiert, und diese wiederum wird durch den Klemmring gespannt. Es verbleibt somit zwischen Präparat und Küvettenboden ein Raum von etwa 1 - 1,5 mm, genügend, um das Nährmedium am Objekt vorbeizuführen. Dabei ist die Cellophan-Membran im nassen Zustand durchlässig für Gas und Ionen, während sie optisch einen relativ flachen Verlauf der Transmission

im sichtbaren Bereich des Spektrums aufweist. Die Abb. 7 gibt die Transmission von vier wasserbenetzten Schichten (es wurden vier Schichten zur Verdeutlichung der Transmissionsunterschiede gewählt) der in den Untersuchungen verwendeten Zellfolie zwischen zwei Objektträgern wieder. Zum Vergleich sind die Transmission von zwei Schichten desselben Objektträgerglases sowie die 100% Transmissions-Linie des Gerätes aufgetragen (s.a. ZURZYCKI 1961 a). Die Messungen wurden mit dem vorerwähnten registrierenden Spektralphotometer, Typ MPS 50, durchgeführt.

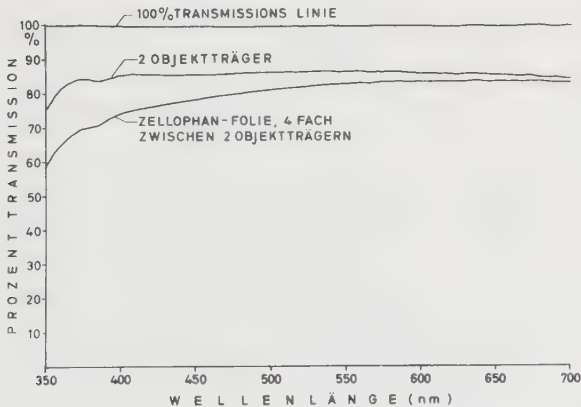
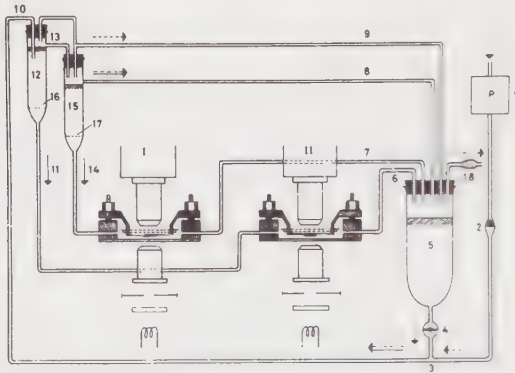


Abb. 7: Spektrale Transmission von Cellophanfolie, 0,05mm stark. Die Messung erfolgte durch 4 Schichten wasserbenetzter Folie zwischen zwei Objektträgern. Zum Vergleich sind die Transmission von zwei Objektträgern ohne Folie und die 100 % Transmissions-Linie des Spektralphotometers aufgetragen.

2. Durchflußsystem

Die Kuvette ist an den Kreislauf eines Durchfluß-Systems (dargestellt in Abb. 8) gekoppelt.



DOPPELDURCHFLUSS-SYSTEM

Abb. 8: Doppeldurchfluß-System. 1: Membran-Pumpe zur Luftförderung, 2: Rückschlag-Ventil, 3: Mischpunkt, 4: Kreislumpumpe, 5: Unteres Speichergefäß, 6: Rücklauf von System II, 7: Rücklauf von System I, 8: Druckausgleich, Überlauf System I, 9: Luft-Druckausgleich, 10: Einlauf von System II, 11: Auslauf von System II, 12: Oberes Speichergefäß (System II), 13: Überlauf von System II = Einlauf von System I, 14: Auslauf von System I, 15: Oberes Speichergefäß (System I), 16 u. 17: Nylon-Gaze zur Filterung größerer in der Nährlösung suspendierter Luftblasen. Durchbrochener Pfeil: Luftweg. Durchgezogener Pfeil: Weg des Nährmediums.

Der Aufbau dieses Durchfluß-Systems, das zwei Kuvetten unabhängig voneinander zu versorgen vermag, besteht im

wesentlichen aus drei Vorratsgefäßen und zwei Pumpen. Das Nährmedium im Vorratsgefäß (5) fließt über die Kreispumpe (4) (Typ 381, Fa. Eheim, Deizisau) dem Mischpunkt (3) zu und wird dort mit Luft aus der Membranpumpe (1) durchmischt. Das Gemisch wird dem Vorratsgefäß (12) zugeführt. Die überschüssige Menge fließt über den Auslauf (13) in ein zweites, gleiches Vorratsgefäß (15) und versorgt von dort das Küvetten-System I.

Infolge der hydrostatischen Druckdifferenz, bedingt durch die verschiedenen Flüssigkeitsniveaus in den Gefäßen (12) und (5), durchströmt das Nährmedium in einem stetigen Fluß die Durchflußküvette des Photometersystems II und fließt über den Einlaufstutzen (6) in das Gefäß (5) zurück. Der Druckausgleich im System erfolgt über die Verbindungen (8) und (9), wobei (8) zugleich als Überlauf-Niveau dient. Eine -nicht eingezeichnete- Temperierschlange im Gefäß (12) gestattet Untersuchungen bei verschiedenen Objekttemperaturen, während die Temperatur im Außenraum konstant gehalten werden kann. Der Druckausgleich zum Außenraum erfolgt über den Stutzen (18).

Diese Art von Umpump-System gewährleistet ein von Druckschwankungen freies Durchfließen der Küvette, welches physiologische Veränderungen am Versuchsmaterial sowie optische Störungen, etwa durch Defocussierung, ausschließt.

3. Das optische System

Um, wie einleitend beschrieben, die Fehlermöglichkeiten und Schwierigkeiten, die subjektive Beobachtungen einer Quantifizierung der Verlagerung von Chromatophoren entgegenstellen, zu umgehen, wurde eine mikrophotometrische Methode mit kontinuierlicher Registrierung der Meßgröße eingesetzt. Die Überlegung, die Plastidenverlagerung photometrisch zu erfassen, läßt sich gut an dem in Abb. 9 dargestellten Beispiel demonstrieren. Voraussetzung für

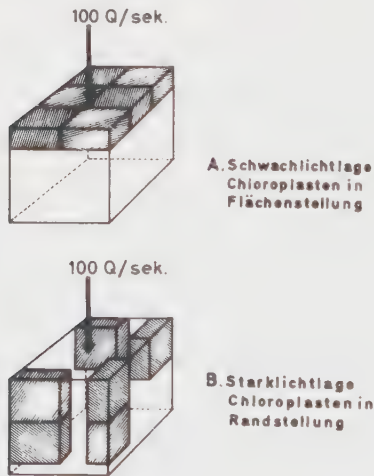


Abb. 9: Schema einer Zelle mit Chromatophoren in Schwachlicht-Lage (A) und Starklicht-Lage (B). Von 100 Quanten, die in der Sekunde auf die Zelle fallen, würden im Fall (A) genau 50 Quanten und im Fall (B) ca. 73 Quanten auf einen unter der Zelle angeordneten Photodetektor treffen.

die angewandte Methode ist, daß in einer pflanzlichen Zelle die Absorption im wesentlichen durch die Anzahl der Chromatophoren und/oder durch den Gehalt und die Art von Pigmenten in diesen bestimmt wird.

In Abbildung 9 A und 9 B ist schematisch eine Zelle dargestellt, in der die Chromatophoren eine Flächenstellung (Abb. 9 A) und eine Rand-(Kanten)-Stellung, wie Abb. 9 B zeigt, einnehmen. Die Transmission eines Einzel-Chromatophors sei mit 50% in Flächenstellung und mit 25% in Kantenstellung angenommen. Die Transmission des nicht von Chromatophoren besetzten Zellraums sei 100%, und die Anzahl der auf die Zelle einfallenden Quanten betrage 100 pro Sekunde. Das Längenverhältnis der Kanten des als Quader angenommenen Chromatophors sei $2 : 2 : 1$, wobei in der Flächenstellung die Chromatophoren lückenlos die dem Licht zugewandte Zelloberfläche einnehmen mögen. (Diese letzteren Annahmen widersprechen in der Regel realen Verhältnissen).

Der Vergleich der beiden Extremlagen der Plastidenstellung ergibt rechnerisch, daß ein Detektor unter der Zelle im Falle der Flächenstellung genau 50 Quanten empfängt, während im Falle der Randstellung für das gegebene Beispiel ca. 73 (genau 72,92) Quanten auf diesen treffen.

Die durch die Verlagerung der Plastiden hervorgerufenen Transmissionsänderungen mittels eines Photoempfängers direkt zu bestimmen, bereitet wegen der geringen Thallus-

breite normal gewachsener Pflanzen Schwierigkeiten. Zum anderen sollte der Bewegungsvorgang der Chromatophoren einer direkten Beobachtung zugänglich sein. Es wurde daher ein Mikroskop vom Typ "Universal" der Fa. Zeiss, Oberkochen, in dessen Tubuskopf ein Strahlenteiler eingebaut ist, zu einem Mikrophotometer ausgebaut. Das Lampengehäuse zur Aufnahme von HG- und XE-Brennern wurde mit einem Einsatz zur Aufnahme von Quarz-Jodid-Lampen ausgestattet, die aus einem hochstabilen Netzgerät vom Typ 6274 A (Fa. Hewlett & Packard, USA) mit einem konstanten Strom von 7,6 Ampere und einer Regelgenauigkeit und Langzeitstabilität von besser als 10^{-4} versorgt wurden. Vorzugsweise sind hierbei Lampen des Typs 7023 (12 Volt/100 Watt, Philips, Eindhoven) eingesetzt worden, die gegenüber den 24 Volt/250 Watt Quarz-Jodid-Lampen bei etwa gleicher Leuchtdichte eine geringere Erwärmung und vor allem eine höhere mechanische Stabilität der Glühwendel aufweisen. Diese Stabilität ist erforderlich, da die Lampe als Anregungslicht und als Meßlicht zugleich verwendet wird. Die genaue Stromregelung eliminiert den Einfluß von wechselnden Übergangswiderständen, die insbesondere im Bereich des heißen Lampensockels auftreten. Darüber hinaus wurden die Lampen mit nur ca. 90% ihres Nominal-Stromwertes betrieben, so daß sich hieraus, wie die Abb. 10 verdeutlicht, eine beträchtliche Erhöhung der Lebensdauer ergibt (ZEISS 1960). Die thermischen Übergangswiderstände im Bereich des Lampensockels sind zudem durch die besondere Konstruktion des Lampenein-

satzes so gering, daß eine durchschnittliche Lampenlebensdauer von 800 Stunden erreicht wurde.

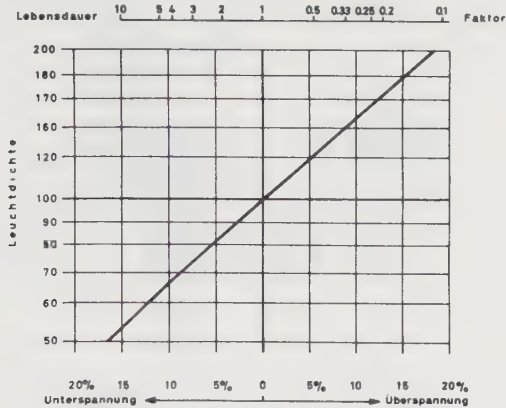


Abb. 10: Betriebsspannung, Leuchtdichte und Lebensdauer einer Wolframfaden-Lampe.

Der Strahlengang des Photometers ist in Abb. 11 wiedergegeben. Das Anregungs- und zugleich Meßlicht passiert die beiden Filter KG 3 und BG 38, das Kondensorsystem (c) und bestrahlt das Objekt mit einer Intensität, die durch das Einfügen oder Herausnehmen von ausgemessenen Neutralglasfiltern definierter Schwächung (i) festgelegt wird. Das Standard-Kondensor-System (k) wurde durch ein Neofluarobjektiv (Zeiss) 10facher Vergrößerung ersetzt und garantiert eine gleichmäßige Objektausleuchtung.

Das mikroskopische System besteht ebenfalls aus einem Zeiss-Neofluar, 10x-Objektiv und einem 12x Okular vor dem Photodetektor. Als Detektor wird ein selektierter

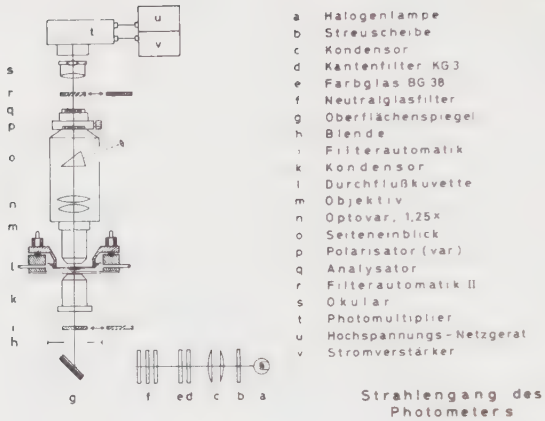


Abb. 11: Optischer Strahlengang des Mikrophotometers.

selektierter Käfigdynoden-Photomultiplier mit Seiten-Kathode und S-5 Charakteristik vom Typ 1P-28A (RCA) verwendet.

Die Graphik in Abb. 12 gibt die ungefähren Lage- und Flächenverhältnisse des Beleuchtungsfeldes, des Meßfeldes und des Präparates wieder. Es wird hieraus deutlich, daß nur ein relativ kleiner Flächenanteil des Thallus im Bereich des Beleuchtungsfeldes photosynthetisch wirksam sein kann und an der induzierten Verlagerung der Chromatophoren teilnimmt. Somit wird, unterstützt durch die niedrige Versuchstemperatur, die Wachstumsrate des gesamten Thallus erheblich reduziert, was die Voraussetzung dafür gibt, daß auch längerfristige Messungen an der selben Objektstelle durchgeführt

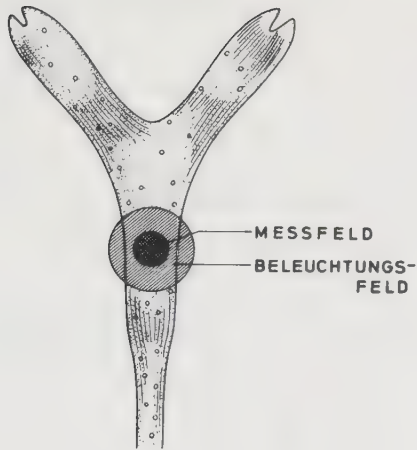


Abb. 12: Darstellung der ungefähren Größenverhältnisse von Thallus, Beleuchtungsfeld und Meßfeld sowie bevorzugter Meßort im Thallus .

werden können. Zum anderen wird durch die Größenzuordnung von Beleuchtungs- und Meßfeld erreicht, daß Rand- und Streueffekte, Defokussierung des Meßfeldes, oder auch mögliche geringfügige Versetzungen des Präparates keinen nennenswerten Einfluß auf die Signalgröße haben.

Als Meßort wurde in der Regel der Thallusabschnitt unterhalb der ersten größeren Verzweigung ausgewählt, da im Bereich der Scheitelzelle der Thallus schwach pigmentiert ist und die Chromatophoren nicht oder kaum reagieren. Andererseits findet sich in der Thallusbasis zwar eine starke Pigmentierung, daneben jedoch auch schon eine

größere Anzahl fertiler Zellen, die nicht mehr reaktionsfähig sind. Der Thallusabschnitt unterhalb der ersten Verzweigung weist dagegen eine fast gleichmäßige, starke Pigmentierung wie die Thallusbasis auf, ohne in einzelnen Zellbereichen fertil zu sein.

Es ergibt sich hier die Frage, wie sich bei einer solchen teilweisen Beleuchtung des Thallus der außerhalb des Beleuchtungsfeldes befindliche Teil verhält, und ob in diesem Bereich durch die dauernde Dunkelheit physiologische Schäden zu erwarten sind. Die durchgeführten Messungen zeigten, daß Versuchsobjekte, die nach einer längeren Versuchsserie im Durchflußsystem 20 Tage hindurch dunkel gehalten wurden, bei Wiederaufnahme der Versuche anfangs eine erheblich größere Reaktionsamplitude der Chromatophorenbewegung aufwiesen als gegen Ende der vor der Dunkelpause liegenden Versuchsserie. Eine Objektschädigung scheint somit nicht einzutreten. In diesem Zusammenhang sei auch auf die später diskutierten Versuche im Abschnitt IV.4.1 verwiesen.

Die Funktion der Filter (i) und (r) in Abb. 11 sowie die Kombination aus variablem Polarisator und festem Analysator (p und q) wird aus den folgenden Überlegungen und der Darstellung in Abb. 13 deutlich:

Auf das Objekt fällt die Intensität I_0 (Schwachlichtintensität). Die Transmission der Probe sei $T = I'_0/I_0$ (s. Abb. 13 A). Die Intensität hinter dem Präparat, die

ein entsprechendes elektrisches Signal im Photomultiplier ergibt, ist damit $I'_0 = T \cdot I_0$.

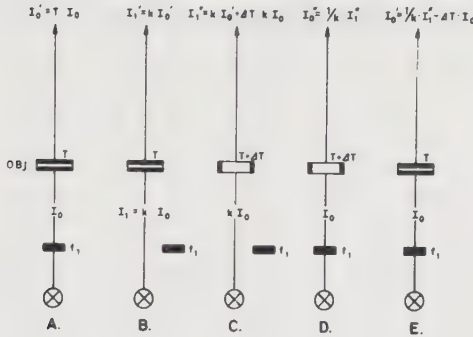


Abb. 13: Intensitätsverhältnisse in Objektebene und Photodetektor-Ebene ohne Kompensationsfilter bei verschiedener Objektbeleuchtung. A: Schwachlicht-Bestrahlung des Objektes und Schwachlicht-Stellung der Chromatophoren. B: Starklicht-Bestrahlung und Beginn der Starklichtbewegung. C: Starklicht-Bestrahlung und Starklicht-Stellung der Chromatophoren. Transmissions-Unterschied im Objekt: $+\Delta T$; Intensitäts-Unterschied am Empfänger: $+\Delta T \cdot k \cdot I_0$. D: Schwachlicht-Bestrahlung und Beginn der Schwachlicht-Bewegung. E: Schwachlicht-Bestrahlung und Schwachlicht-Stellung der Chromatophoren. Transmissions-Unterschied im Objekt: $-\Delta T$; Intensitäts-Unterschied am Empfänger: $-\Delta T \cdot I_0$.

Zur Induktion der Chromatophorenbewegung wird die Intensität I_0 auf den Wert $I_1 = k \cdot I_0$ geändert (Starklichtintensität), wobei die Größe k den Schwächungsfaktor

des Filters (f_1) definiert (Abb. 13 B). Die Intensität hinter dem Präparat ändert sich entsprechend auf den Wert $I'_1 = k \cdot I'_0 = T \cdot k \cdot I_0$. Zusätzlich tritt jedoch, hervorgerufen durch die Starklicht-Bewegung der Chromatophoren, eine Transmissionszunahme von der Größe $+ \Delta T$ und damit eine Intensitätsänderung $\Delta I''_1$ von der Größe

Gleichung 1

$$\Delta I''_1 = + \Delta T \cdot k \cdot I_0$$

auf (Abb. 13 C).

Die Wiederherstellung des Ausgangszustandes (Beleuchtung des Präparates mit der Intensität I_0 , Abb. 13 D) ruft in der Probe infolge der Schwachlichtbewegung eine Transmissionsabnahme $- \Delta T$ hervor; die damit verbundene Intensitätsänderung $\Delta I'_0$ hat die Größe

Gleichung 2

$$\Delta I'_0 = - \Delta T \cdot I_0$$

Um die interessierenden Größen $+ \Delta T$ aus der Starklichtreaktion und $- \Delta T$ aus der Schwachlichtreaktion direkt vergleichen zu können, vorausgesetzt, daß bei Beginn des Intensitätswechsels die Basisintensitäten I'_0 bzw. I'_1 kompensiert wurden, stehen am Multipliierausgang lediglich die elektrischen Signale der Größen $\Delta I''_1$ und $\Delta I'_0$ zur Verfügung. Diese unterscheiden sich bei gleichem ΔT um den Filterfaktor k .

Eine Angleichung der Signale $\Delta I''_1$ und $\Delta I'_0$ wäre z.B.

durch eine elektrische Variation der Systemverstärkung um den Faktor k jeweils zu Beginn des neuen Beleuchtungsprogrammes möglich (es wäre u.a. an eine Regelung der Dynodenspannung im Photoempfänger zu denken), jedoch würde in diesem System ohne Chopper die Belastungscharakteristik des Multipliers (Zunahme des Dunkelstromes mit höherer Kathodenbestrahlung) die Charakteristik der Transmissionsänderung im Objekt insbesondere dann überdecken, wenn diese Änderungen im Promille-Bereich liegen. Es ergibt sich aus diesem Grunde die Forderung nach einer möglichst konstanten Beleuchtungsstärke am Photoempfänger trotz unterschiedlicher Immissionsverhältnisse in der Präparatebene. Diese Forderung ließ sich durch Einführen einer definierten Intensitätsschwächung um den Faktor k zwischen Objekt und Photomultiplier erfüllen. Die sich dann ergebenden Verhältnisse stellt das Schema in Abb. 14 dar:

Ausgehend von einer festen Basisintensität (in unseren Experimenten meist 40.000 Lux) werden die verschiedenen Schwachlicht- und Starklicht-Intensitäten in der Präparatebene durch Einfügen (Schwachlicht) bzw. Herausnehmen (Starklicht) von Neutralglasfiltern (f_1 in Abb. 14) eingestellt. Simultan wird ein Satz Neutralglasfilter gleicher Transmission aus dem Strahlengang vor dem Photomultiplier entfernt bzw. eingesetzt (f_2 in Abb. 14). Trotz ausgesuchter Filterpaare f_1 und f_2 in Abb. 14 können sich aufgrund der verschiedenen optischen Verhältnisse vor und hinter dem Präparat kleine Intensitäts-

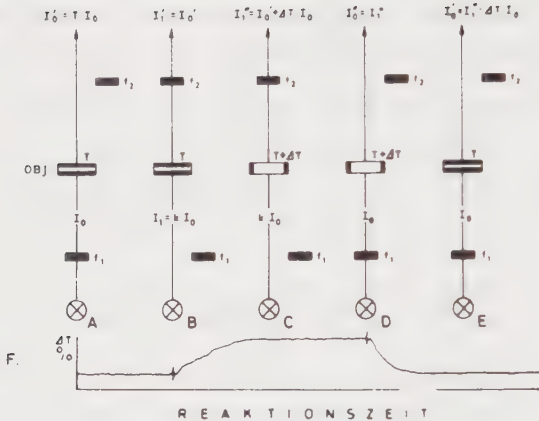


Abb. 14: Intensitäts-Verhältnisse in Objektebene und Photodektorebene bei verschiedener Objektbeleuchtung, jedoch mit Kompensationsfilter f_2 . A: Schwachlicht-Bestrahlung und Schwachlicht-Stellung der Chromatophoren. B: Starklicht-Bestrahlung und Beginn der Starklicht-Bewegung. C: Starklicht-Bestrahlung und Starklicht-Stellung der Chromatophoren. Transmissions-Unterschied im Objekt: $+\Delta T$; Intensitäts-Unterschied im Empfänger: $+\Delta T \cdot I_0$. D: Schwachlicht-Bestrahlung und Beginn der Schwachlicht-Bewegung. E: Schwachlicht-Bestrahlung und Schwachlicht-Stellung der Chromatophoren. Transmissions-Unterschied im Objekt: $-\Delta T$; Intensitäts-Unterschied im Empfänger: $-\Delta T \cdot I_0$. F: Resultierendes zeitliches Reaktions-Diagramm.

unterschiede beim Filterwechsel ergeben. Für den bei einigen Messungen notwendigen Feinabgleich wurde deshalb hinter dem Präparat die Polarisator/Analysator-Kombination (p und q in Abb. 11) eingesetzt.

4. Filterwechsel-Automatik

Der zuvor beschriebene simultane Filterwechsel wurde automatisiert, indem die Filtersätze auf zwei Drehtische montiert wurden, die wiederum von zwei Gleichstrom-Motoren angetrieben werden. Der Vorteil der Gleichstrom-Motoren im Vergleich zu Drehmagneten liegt neben dem vom Drehwinkel unabhängigen Drehmoment vor allem in der Möglichkeit, den Drehsinn elektrisch umkehren zu können. Auf diese Weise werden Filterwechselzeiten von weniger als 1/10 Sekunden erreicht; da die elektrische Signalauswertung (s.u.) in der Regel mit Dämpfungs-Zeitkonstanten von 20 Sekunden arbeitete, rief der Filterwechsel nur geringfügige transiente Veränderungen an der Aufzeichnung hervor (Abb. 14 F).

Die beiden Gleichstrom-Motoren sind in Reihe geschaltet und an einen elektronischen Kurzzeitschalter angeschlossen. Dieser Schalter kann entweder manuell betätigt, oder von einer Schaltuhr gesteuert werden, was insbesondere Untersuchungen mit festem Programmwechsel, wie z.B. Experimente zum Langzeitverhalten oder Studien von circadianen Rhythmen, sehr erleichtert. Das Schaltdiagramm des Kurzzeitschalters ist in Abb. 15 gegeben und sei im folgenden kurz beschrieben:

Nach der Transformation der Netzspannung auf 20 Volt, Gleichrichtung durch die Dioden D_1 .. D_4 und anschließender Siebung liegen an den Emittern der Transistoren T_2 bzw. T_4 zwei gleich große Spannungen (+U bzw. -U) von

ca. 30 Volt mit entgegengesetzter Polarität. Schließen.

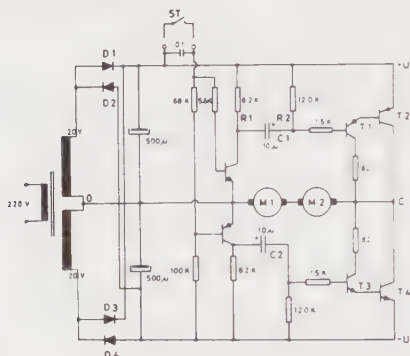


Abb. 15: Elektrisches Schaltbild der Filter-Automatik. ST: Schaltkontakt. $D_1 \dots D_4$: Netzgleichrichtung. M_1, M_2 : Antrieb für die beiden Filter-Drehtische.

des Kontaktes S_T bewirkt eine Aufladung des Kondensators C_1 , wobei die fließenden elektrischen Ladungen die Transistoren T_1 und T_2 öffnen. Die Motoren werden von einem Gleichstrom über den Weg $+U - T_2 - C - M_2 - M_1 - 0$ durchflossen und drehen in die eine Richtung. Der Strom durch die Motoren nimmt allmählich ab, sowie C_1 aufgeladen wird. Das Anfangsdrehmoment ist groß, da die Motoren kurzzeitig mit Überstrom betrieben werden. Dagegen wird ein eventuelles Zurückprellen des Drehtisches am Anschlag und damit die Gefahr einer nur teilweisen Abdeckung des Strahles durch die Stromabnahme nach Aufladung von C_1 unterdrückt.

Wird der Schalter S_T geöffnet, lädt sich die Kapazität C_2 auf. Die Transistoren T_3 und T_4 öffnen, wobei ein Strom entgegengesetzter Richtung die Motoren durchfließt. Gleichzeitig entlädt sich der Kondensator C_1 über den Widerstandsweg R_1 und R_2 .

5. Photometer-Elektronik

5.1 Blockdiagramm

Die Abb. 16 zeigt ein Blockdiagramm des Photometers, in dem der Verlauf des elektrischen Signals sowie die Signal-Konditionierung angegeben ist.

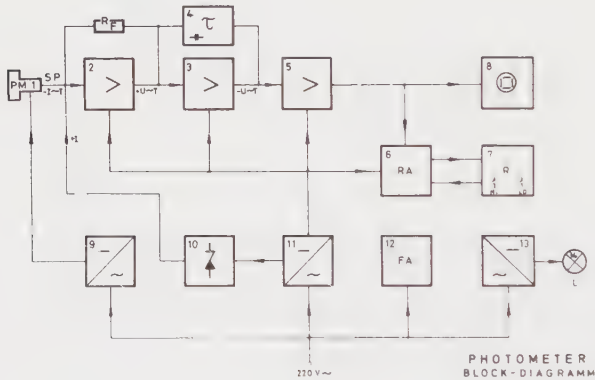


Abb. 16: Block-Diagramm des Photometers. 1: Photomultiplier. 2: Strom-Spannungswandler (Breitbandverstärkung). 3: Aktiver Tiefpaß mit fester Verstärkung um den Faktor 10. 4: Passives, variables Zeitglied. 5: Ausgangs-Verstärker. 6: Recorder-Bereichs-Automatik. 7: Recorder. 8: Oszilloscope. 9: Photomultiplier-Versorgung. 10: Stromkompensation. 11: Niederspannungs-Doppel-Netzgerät mit Ausgangsspannungen von $-15/0/+15$ Volt. 12: Filterautomatik. 13: Niederspannungs-Netzgerät für die Lampenstromversorgung. 14: Quarz-Jodid-Lampe. SP: Summenpunkt. R_F : Gegenkopplungswiderstand.

Ein hochstabiles Netzgerät (Block 9) der Type 6516 A (Fa. Hewlett & Packard) speist eine konstante Spannung

von 850 Volt in die Dynodenkette des Photomultipliers (Block 1), dessen Sockelverschaltung im einzelnen in Abb. 17 dargestellt ist. Hinzuweisen ist hier auf die

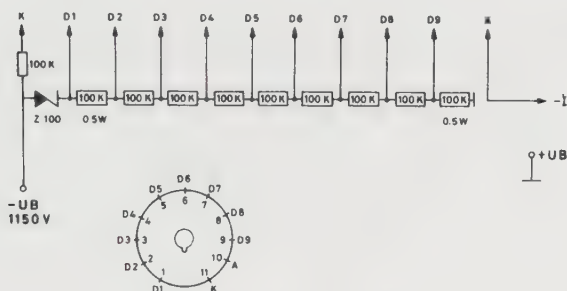


Abb. 17: Sockelschaltung des verwendeten Photomultipliers 1P-28 A.

Verwendung einer Zenerdiode von 100 Volt zwischen der ersten Dynode und der Kathode anstatt des üblichen Widerstandes. Diese Diode gewährleistet, daß selbst bei niedriger Gesamt-Dynodenspannung die Potentialdifferenz der ersten Multiplierstufe ausreichend ist, sämtliche aus der Kathode herausgelösten Elektronen "abzusaugen". Nichtlinearitäten durch Sättigungseffekte sind somit auszuschließen.

Der Photomultiplier (Block 1 in Abb. 16) liefert an seinem Ausgang einen Elektronenstrom, der proportional der auftreffenden Lichtintensität I'_0 (Abb. 14) ist. Dieses Signal wird dem Summenpunkt eines Operations-

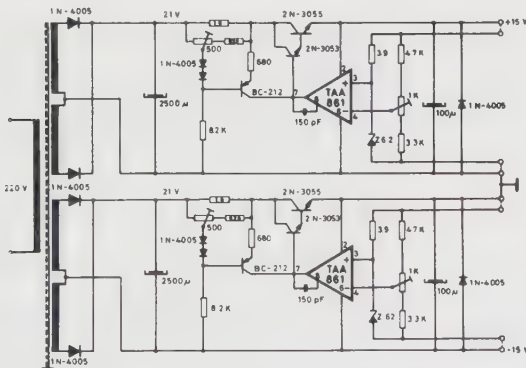
verstärkers (2) mit sehr geringer Eigenstromdrift aufgeschaltet. Gleichzeitig speist ein kalibrierter Kompensationsstrom gleicher Größe, aber mit umgekehrter Polarität, aus einer variablen Referenzstromquelle (10) in den Summenpunkt ein, so daß der als Strom-Spannungswandler geschaltete Verstärker (2) in diesem Zustand das Ausgangspotential Null aufweist. Intensitätsänderungen ΔI jedoch resultieren in einer Stromdifferenz am Summenpunkt (SP). Diese Stromdifferenzen bewirken eine von Null verschiedene Ausgangsspannung am Verstärker (2), deren Größe nach der Theorie für den idealen Operationsverstärker sich aus dem Produkt der Eingangsstrom-Differenz und aus dem Wert des variablen Gegenkopplungswiderstandes R_F bestimmt. Unter bestimmten Voraussetzungen kann ein praktisch aufgebauter Operations-Verstärker als ideal angesehen werden, wenn einige grundsätzliche Bedingungen hinsichtlich des Schaltungskonzeptes, der Auswahl der Bauelemente und der Schaltungs-Dimensionierung beachtet werden. Kritische Untersuchungen hierzu sind in der Literatur beschrieben und sollen an dieser Stelle nicht näher behandelt werden (TOBEY et al. 1971; DONBAUER et al. 1966; HAHN 1970; KÄELIN 1968).

Der Verstärker (Block 3) besitzt eine festeingestellte Spannungsverstärkung von $v_u = 10$ und ermöglicht, zusammen mit dem variablen Tiefpaßfilter (4), obere Grenzfrequenzen von 0,0016 Hz bis 160 Hz. Ein kurzschlußfester Endverstärker (5) mit einer Spannungsverstärkung von $v_u = 1$ gestattet den Anschluß niederohmiger Anzeige- und Regi-

striergeräte, wie z.B. Oscilloscope (8) oder Schreiber (6 und 7).

5.2 Doppel-Netzgerät ± 15 Volt

Die Versorgung aus dem Netz übernimmt ein transistor-stabilisiertes Doppel-Netzgerät (11), an dessen Ausgang ± 15 Volt bei 1 Ampere Belastbarkeit und einer Konstanz von $5 \cdot 10^{-5}$ zur Verfügung stehen. Das Schaltdiagramm des Netzgerätes ist in Abb. 18 dargestellt.



DOPPELSTROMVERSORGUNG

Abb. 18: Elektrisches Schaltdiagramm des Doppel-Netzgerätes für 15 Volt und 1 Ampere Belastbarkeit. TAA 861 : Integrierter Differenzverstärker.

5.3 Signal Verarbeitung

Die Abb. 19 gibt die elektrische Einzelschaltung des Signalweges wieder. Der Photomultiplier speist den Sig-

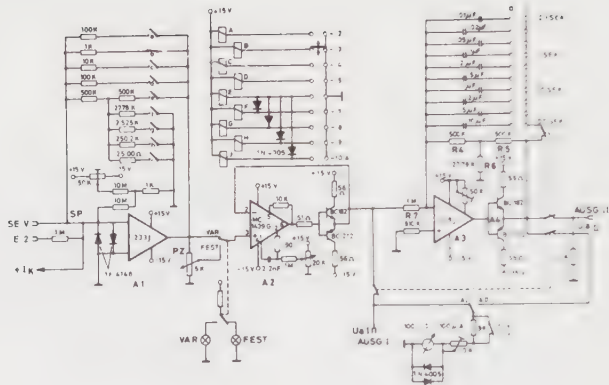


Abb. 19: Elektrisches Schaltbild der Signalverstärkung. SEV: Photomultiplier-Eingang. E2: Fakultativer Spannungseingang. $+I_K$: Einspeisung des Kompensationsstromes. A₁: Eingangsverstärker. A₂: Impedanzwandler. A₃ und A₄: Tiefpaßfilter und Endverstärker.

nalstrom I'_0 über die Buchse SEV in den Summenpunkt SP. Der chopper-stabilisierte Operationsverstärker, Typ 233 J (Fa. Analog Devices, München) mit einer Leerlaufverstärkung von 10^7 weist zwar schon einen geringen Eingangsoffsetstrom von 50 pAmpere bei einer Eingangsstromdrift von 2 pAmp/ $^{\circ}\text{C}$ auf, wurde aber zusätzlich noch mit den Widerständen P_1 , R_1 , R_2 und R_3 kompensiert. Die Gegenkopplungswiderstände $R_{F/a}$ bis $R_{F/j}$ sind in Stufen zuschaltbar.

Hohe Quellwiderstände und hohe Stromverstärkungen in einem invertierenden Verstärker erfordern üblicherweise

ausnehmend hohe Werte der Gegenkopplungswiderstände. Zum Beispiel ist im verwendeten Photometer die empfindlichste Stufe so ausgelegt, daß eine Stromdifferenz von 10^{-10} Ampere eine Ausgangsspannung von 1 Volt ergibt. Dieses bedingt einen Gegenkopplungswiderstand von 10^{10} Ohm. Widerstände mit solch hohen Werten sind relativ kostspielig, wenn geringe Toleranzen bei guter Stabilität gefordert werden. Vor allem jedoch ergeben sich beim Einsatz so hoher Widerstandswerte ernste Probleme im Hinblick auf kapazitiv übertragene Störspannungen dadurch, daß diese Widerstände in unmittelbarer Nähe des aktiven Elements (Verstärker) im Geräteinneren angeordnet sind, während die Bedienungselemente (Schalter, Potentiometer usw.) von der Frontplatte des Gerätes her zugänglich sein müssen. Zum anderen können Leckströme bei der Verwendung von gedruckten Schaltplatinen Schwierigkeiten bereiten.

Diesen Problemen wurde auf zweierlei Weise begegnet. Einerseits sind den kritischen Widerständen kleine Schutzgas-Reed-Relais (A bis J in Abb. 19) vom Typ DLR, Siemens & Halske, zugeordnet, die in unmittelbarer Nähe der Hochohmwiderstände auf der Printplatte montiert wurden. Dabei wird nur die Erregerspule über den Schalter an der Gehäusefrontplatte betätigt. Zum anderen sind einige der Gegenkopplungswiderstände durch jeweils ein Widerstands T-Glied ersetzt. Zur Verdeutlichung ist in Abb. 20 ein Strom/Spannungs-Konverter in konventioneller Schaltung (A) einer äquivalenten Schaltung mit einem

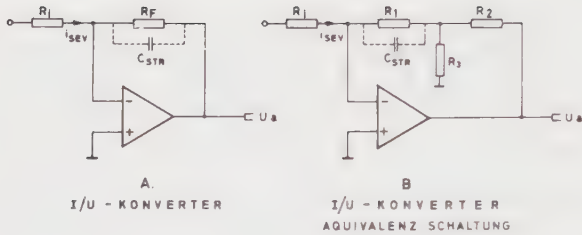


Abb. 20: Prinzip-Schaltung eines Strom-Spannungs-Konverters in (A) konventioneller Schaltung und (B) als Äquivalenz-Schaltung dargestellt. R_F ist durch die Widerstände R_1 , R_2 und R_3 ersetzt, wobei $R_1 \gg R_3$ ist.

T-Netzwerk in der Gegenkopplung gegenübergestellt. Wie bereits oben ausgeführt, ergibt sich für die Ausgangsspannung in der Schaltung A der Wert

Gleichung 3

$$U_a = -R_F \cdot i_{SEV}$$

während sich nach der Abb. 20 B für die Ausgangsspannung die Beziehung

Gleichung 4

$$U_a = -R_1 \left(1 + \frac{R_2}{R_1} + \frac{R_2}{R_3} \right) \cdot i_{SEV}$$

ergibt.

Setzt man die Widerstände R_1 und R_2 mit 500 Kiloohm gleich, so resultiert für den Widerstand R_3 bei dem im obigen Beispiel genannten Gesamtgegenkopplungs-Widerstand

von $R_F = 10^{10}$ Ohm ein Wert von $R_3 = 25,00$ Ohm.

Eine Beurteilung der Empfindlichkeit der beiden Schaltungen gegenüber äußeren Störeinflüssen ist durch die Betrachtung der Zeitkonstanten aus dem Produkt von Streukapazität und wirksamen Widerstand am Verstärkereingang möglich (PHILBRICK 1966). Während sich im Falle der Abb. 20 A ein Wert von

Gleichung 5

$$T_A = R_F \cdot C_{Str} \cong 10^{-2} \text{ sek}$$

ergibt ($C_{Str} \cong 10^{-12}$ F), so errechnet sich in der Schaltung Abb. 20 B dieser Wert zu

Gleichung 6

$$T_B \cong R_1 \cdot C_{Str} \cong 5 \cdot 10^{-7} \text{ sek.}$$

Der Störabstand gegenüber äußeren Einflüssen ist um mehr als 4 Größenordnungen besser, und es können praktikable Widerstandswerte eingesetzt werden, die noch in hochstabiler Draht- bzw. Metallfilmausführung erhältlich sind.

Wie aus Gleichung 4 ersichtlich, wird die Signalphase im Verstärker A_1 in Abb. 19 um 180 Grad gedreht. Um definierte Schwächungsfaktoren des Signals einstellen zu können, ist der Verstärker A_1 mit einem Widerstand P_2 beschaltet, der als 10-gängiges, drahtgewickelter Wendepotentiometer (Typ 2476, Fa. Beckman Instr., München) ausgeführt ist. Das Potentiometer darf aus Linearitätsgründen nicht mit der Eingangsimpedanz der Ausgangs-Verstärker-

stufe A_3 belastet werden, daher ist als nicht-invertierender Impedanzwandler die Verstärkerstufe A_2 zwischengeschaltet. Dieser Verstärker A_2 ist voll gegengekoppelt und weist in dieser Verschaltung eine Eingangsimpedanz von mehr als 40 MOhm bei einer Ausgangsimpedanz von ca. 0,05 Ohm auf.

Auch die Verstärker A_3 / A_4 verwenden das zuvor beschriebene T-Widerstands-Netzwerk, welches zusammen mit den stufenweise zuschaltbaren Kapazitäten einen Tiefpaß für Grenzfrequenzen (3 db Abfall) von 160 Hz bis 16 MHz ergibt. Die Spannungsverstärkung dieser Stufe errechnet sich nach der Beziehung

Gleichung 7

$$v_u = - \frac{\bar{U}_{aII}}{\bar{U}_{aI}} = \frac{R_F}{R_6} \cdot \frac{1}{1 + p \cdot R_F \cdot C_F}$$

mit $R_F = R_4 \cdot (1 + R_5/R_4 + R_5/R_6) = 10^7 \text{ Ohm}$

und $p = \sqrt{-1} \cdot 2 \pi \cdot f$

Für $f \rightarrow 0$ wird die Verstärkung $v_u = 10$ fach.

5.4 Stromkompensation

Um, wie oben dargestellt, kleine Änderungen $\Delta I'$, die einem hohen Grundsignal I'_0 überlagert sind, erkennbar zu machen, wird dem Summenpunkt SP der ersten Verstärkerstufe A_1 ein Kompensationsstrom von exakt der Größe eingespeist, die dem durch die Intensität I'_0 hervorgerufenen elektrischen Strom aus dem Photomultiplier entspricht.

Spannungsreferenz ergibt. Der Verstärker A_2 invertiert lediglich. Es steht somit zusätzlich eine positive Spannung U_K von + 10,000 Volt zur Verfügung. Die Spannung U_K wird dekadisch bis auf 1 mV herabgeteilt und über einen nicht-invertierenden Impedanzwandler-Verstärker A_7 , sowie über ein iraktgewickelter 10-Gang-Potentiometer mit einer Auflösung von 1 Teil in 1000 schließlich der strombestimmenden Widerstandskette zugeführt. Auch hier sind, wie zuvor diskutiert, die Widerstände höherer Werte durch einen T-Vierpol ersetzt.

Beim Aufbau des Photometers stellte sich die Frage, ob ein Zerhacken des Lichtes sinnvoll wäre. Als günstigste Position für den Einbau eines Choppers wäre ein Punkt im Strahlengang zwischen Beleuchtungsquelle und Präparat anzusehen, da somit auch Einflüsse des Umgebungslichtes ausgeschaltet würden. Intermittierendes Licht könnte jedoch u.U. im Präparat unerwünschte physiologische Effekte hervorrufen. Eine Anordnung des Choppers hinter dem Präparat dagegen bereitete bisher aus technologischen Gründen Schwierigkeiten, wobei der damit verbundene Aufwand im Verhältnis zum erwarteten Erfolg nicht sinnvoll erschien. Zum anderen zeigte -wie unten noch ausführlich dokumentiert wird- der Photomultiplier nach einer Einlaufzeit von 24 Stunden noch eine Restdrift, die gegen die Meßgröße zu vernachlässigen ist.

5.5 Schreiber-Bereichs-Automatik

Um eine gute Auflösung der Reaktionsgröße zu erreichen, wurde die System-Verstärkung so gewählt, daß das Signal etwa eine volle Schreibbreite (20 cm) am Registriergerät einnimmt. Oft jedoch, z.B. infolge von Pigmentsynthese oder Ausbleicheffekten, die sich den durch die Bewegungsreaktion hervorgerufenen Transmissionsänderungen überlagern, wurde der Schreibbereich unter- oder überschritten. Eine Reduzierung der Gesamtverstärkung hätte eine ungenügende Auflösung der Reaktion zur Folge; es wurde daher eine Schreiber-Bereichs-Automatik (Block 6 in Abb. 16) entwickelt, die als Einzelschaltbild in Abb. 22 wiedergegeben ist. Die Wirkungsweise ist wie folgt:

Der Schreiber ist mit einem oberen (HI) und mit einem unteren (LO) Grenzwertschalter ausgestattet. Beide Schalter werden durch den Schlitten der Schreibfeder betätigt und sind auf beiden Seiten etwa 3% außerhalb der Registrierbreite positioniert.

Das Photometer-Signal (S) wird (s.a. Abb. 16) nicht dem Schreiber direkt sondern dem Summenpunkt SP des Operationsverstärkers A_2 in Abb. 22_{III} zugeführt. Dieser Verstärker A_2 ist als summierender Inverter geschaltet und besitzt die Verstärkung 1. Der Verstärker A_3 ist ebenfalls als Inverter geschaltet und dreht das Signal in seine ursprüngliche Phase, bevor es auf den Schreiber geschaltet wird. Tritt nun durch ein Signal positiver

Ende, um dort den Schrieb fortzusetzen. Diese Funktion wird umgekehrt, wenn der Grenzwertschalter "LO" am "unteren" Ende betätigt wird. Auf diese Weise erhält man zwei zusätzliche Bereiche am unteren und oberen Ende der Aufzeichnung und damit die Möglichkeit einer dreifachen Auflösung des Signals.

Die Kontroll-Logik ist als Schaltkreisdiagramm in Abb. 22_I gegeben. Es würde den Umfang dieser Arbeit sprengen, die Funktionen anhand des Diagramms im einzelnen zu besprechen; dafür ist eine "Wahrheitstabelle" (truth-table) hinzugefügt (Abb. 22_{II}), die die logischen Pegel an den verschiedenen Schaltkreispunkten bei verschiedenen Stellungen der Grenzwertschalter darstellt. Es seien jedoch einige Forderungen, die mit Hilfe dieser Schaltung zu lösen waren, erwähnt:

1. Das Signal des Grenzwertkontaktes steht nur für den Augenblick der Betätigung durch den Schreibschlitten zur Verfügung und muß daher gespeichert werden.
2. Die Logik-Schaltung muß differenzieren, ob die Betätigung des "LO"-Grenzwertschalters den Befehl bedeutet, aus dem Mittelbereich in den unteren Zusatzbereich, oder aus dem oberen Zusatzbereich in den Mittelbereich zu springen. Der Schaltbefehl vom Grenzwertschalter ist in beiden Fällen gleich. Vor Befehlsausführung ist somit der jeweilige Bereichs-Ist-Zustand zu prüfen.
3. Die Schaltreihenfolge muß gewahrt bleiben. Bei Be-

reichsunterschreitung im oberen Zusatzbereich muß zuerst auf den Mittelbereich geschaltet werden und dann erst - sollte das Signal auch den Mittelbereich unterschreiten - darf der untere Zusatzbereich eingeschaltet werden. Durch eine Kombination aus Zeitverzögerungsgliedern wurde dieses erreicht. Die Symbole in den Blöcken repräsentieren die folgenden Funktionen: SM = Pegeldetektor mit Hysterese; + = AND-Gatter; I = Inverter; T = Verstärker mit festeingestellter Zeitverzögerung zwischen Ausgangs- und Eingangssignal.

Da die kalibrierte Kompensationsspannung U_{cp} in Abb. 22_{III} über einen Bereich von 1 mV bis 10 Volt variabel ist, kann jeder Schreiber, der mit zwei Grenzwertkontakten ausgerüstet ist, an diese Schreiber-Bereichs-Automatik angekoppelt werden.

6. Systemstabilität

Als Einstrahl-System ist dieses Photometer relativ anfällig gegenüber Instabilitäten der Einzelkomponenten. Insbesondere zeigt die Lichtquelle eine starke Abhängigkeit von relativ geringen Schwankungen der Umgebungstemperatur, da sich hierbei die Abstrahlungsbedingungen ändern, und die Lampe eine andere Farbtemperatur annimmt. Anfängliche Untersuchungen wurden in einem "Thermokonsant"-Raum mit Deckenverdampfer-System durchgeführt. Das nebenstehende Diagramm der Systemdrift (Abb. 23)

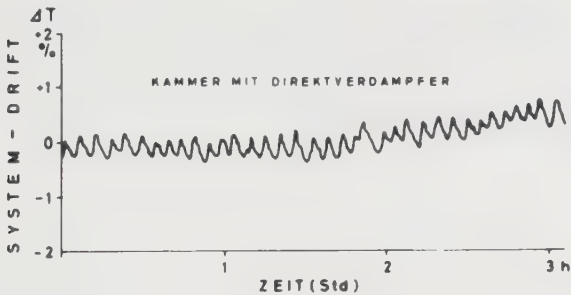


Abb. 23: Verlauf der System-Null-Linie (ohne Objekt) in einer Kammer mit Direkt-Verdampfer (Deckenverdampfer).

demonstriert die relativ großen Schwankungen, die dem periodischen Zu- und Abschalten des Kühlsystems zuzuordnen sind. Seit einiger Zeit jedoch konnte in einer Kammer mit indirekter Temperierung und einer sehr genauen Temperaturkontrolle gearbeitet werden (Fa. Weiss, Gießen). Die Temperaturschwankungen liegen hier im stabilisierten Fall unter 0,2 Grad. Die Abb. 24 zeigt im Vergleich zu

Abb. 23 ein System-Rauschen und eine -Drift, die über

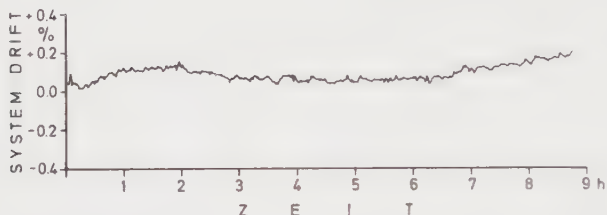


Abb. 24: Darstellung der System-Drift in einer Kammer mit indirektem Kühlsystem. Man beachte den unterschiedlichen Ordinaten-Maßstab im Vergleich zu Abb. 23.

mehrere Stunden unter $\pm 0,001 \Delta T$ gehalten werden. Der Wert ΔT ist auf den Nominal-Meßstrom von $i = 2 \mu\text{Ampere}$, entsprechend $100\% \Delta T$, bezogen (s.a. Abb. 14).

7. Messungen der Beleuchtungsstärke im Präparat

Im Verlauf dieser Arbeit stellte sich das Problem, die absoluten Bestrahlungsintensitäten direkt in der Präparatenebene zu messen. Auf der Suche nach einem Lichtempfänger mit sehr kleiner aktiver Fläche und einer linearen Abhängigkeit des Photostromes von der Intensität im sichtbaren Bereich des Spektrums wurde zunächst der Silizium-Phototransistor, Typ L 14 B (Fa. General Electric) mit einer aktiven Fläche von weniger als 1 mm^2 eingesetzt. Dieser Empfänger weist, wenn die Kollektor-Basis-Strecke als Diode geschaltet ist, ein streng lineares Intensitäts-Strom-Verhalten auf. Jedoch ist eine Kalibrierung in Lux-Einheiten aufgrund der spektralen Charakteristik, die (siehe Abb. 25) weit in den IR-Bereich mit einem

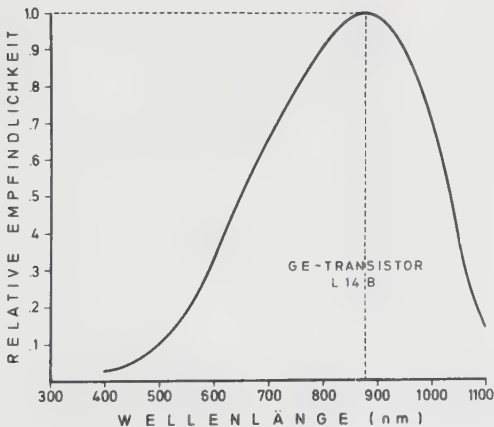


Abb. 25: Relative Spektral-Empfindlichkeit des als Diode betriebenen Phototransistors L 14 B .

Maximum bei 870 nm hineinreicht, schwierig. Aus diesen Gründen wurde der Empfänger L 14 B durch eine Silizium-PIN-Diode TIL 77 ersetzt, eine Neuentwicklung der Fa. Texas Instruments, mit einer aktiven Fläche von etwa 8 mm^2 und einer spektralen Empfindlichkeit (s. Abb. 26),

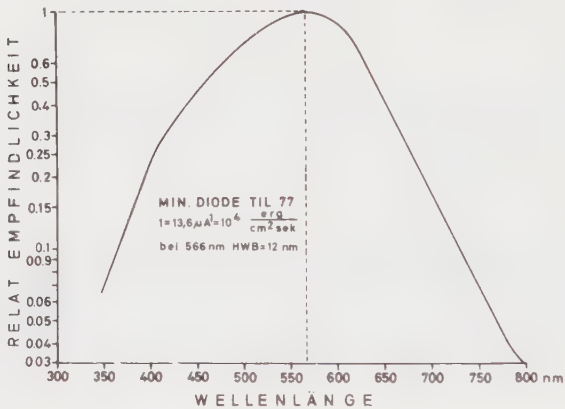


Abb. 26: Relative Spektral-Empfindlichkeit der Silizium-PIN-Diode TIL 77. Abszisse: Wellenlänge in nm. Ordinate: Log. Darstellung des normierten Diodenstromes. Bezugswert: $I_D = 13,6 \mu A$ bei $10^4 \text{ erg/cm}^2 \cdot \text{sek}$ und 566 nm bei einer Filter-Halbwertsbreite von 12 nm.

die angenähert der Augenempfindlichkeitskurve entspricht.

Das Diagramm in Abb. 27 gibt die Abhängigkeit des Photostromes von der Bestrahlungsstärke bei 20° C wieder und zeigt eine über mehrere Dekaden lineare Zuordnung. Der Dunkelstrom liegt wesentlich unter 10^{-8} Ampere ,

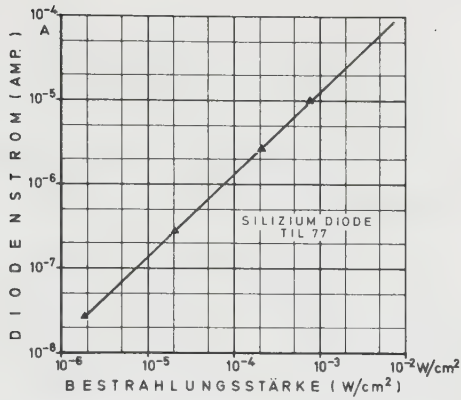


Abb. 27: Linearitätsbeziehung zwischen Photostrom und Bestrahlungsstärke, gemessen bei 566 nm an der Diode TIL 77. Darstellung doppelt logarithmisch.

so daß im Empfindlichkeitsmaximum der Diode Energien von $< 10^{-6}$ W/cm sicher erfaßt werden können.

IV Ergebnisse

1. Untersuchungen zur Chromatophorenbewegung von Dictyota bei unterschiedlichen Beleuchtungsstärken.

1.1 Charakterisierung der Dunkel-, Schwachlicht- und Starklicht-Lage.

Die durch den Außenfaktor Licht bedingte Verlagerung von Chromatophoren veranlaßte SENN (1908), eine Typisierung der Bewegung sowohl in morphologischer wie auch in physiologischer Hinsicht vorzunehmen. Danach sind grundsätzlich drei verschiedene Plastidenstellungen zu unterscheiden, die unter verschiedenen Lichtbedingungen eintreten. Es sind die Dunkel-, Schwachlicht- und Starklicht-Lage. In morphologischer Hinsicht sind allerdings erhebliche Unterschiede auch bei ein und derselben Stellung zu finden.

Bei den meisten Pflanzengruppen ist die Lage im Schwachlicht recht deutlich abzugrenzen. Hierbei nehmen die Chromatophoren eine Position in der Zelle ein, die eine große Absorption und damit einen optimalen Lichtgenuß ermöglicht (ZURZYCKI 1955; HAUPT 1968, 1969). Dieser Bereich optimaler geometrischer Nutzung des einfallenden Schwachlichtes ist eine Funktion der Zellmorphologie.

Im Gegensatz dazu führt die Starklicht-Lage zu einer Anordnung der Chromatophoren an den am schwächsten beleuchteten Stellen der Zelle.

Die größte Vielfalt ist in der Dunkelstellung zu beobachten. Sie ist ausschließlich durch innere Faktoren bedingt, wenn auch der Faktor "Dunkelheit" als Auslöser wirkt.

Bei Dictyota suchen die Chromatophoren sowohl in der Dunkelstellung als auch in der Starklicht-Stellung die Fugenwände auf. Dabei postulieren SENN (1908) und auch HAUPT (1959), daß gerade bei Dictyota häufig nur solche Fugenwände besetzt werden, die an gleichartige Nachbarzellen grenzen. Nach Beobachtungen der im Rahmen dieser Arbeit diskutierten Untersuchungen jedoch ist die Aussage zu erweitern: nicht nur an gleichartige Nachbarzellen grenzende Zellwände werden besetzt, sondern es sind nach längerer Dunkelphase auch in den an die inneren Speicherzellen grenzenden Zellwänden Plastiden zu finden. Erst eine Bestrahlung mit Starklicht vermag auch die dort befindlichen Plastiden in Zellwandbereiche, die an gleichartige Nachbarzellen stoßen, zu verdrängen.

Nähere Ausführungen zur Dunkelbewegung sollen an dieser Stelle allerdings nicht gemacht werden, da die vorliegende Arbeit lediglich Untersuchungen zum Schwachlicht-/Starklicht-Verhalten von Dictyota behandelt.

1.2 Grundsätzliche Untersuchungen zum Bewegungsablauf der Chromatophorenbewegung im Starklicht und im Schwachlicht.

1.21 Qualitative Darstellung des Phänomens.

Wurden in Abb. 9 die beiden Extremlagen der Plastiden bei schwacher bzw. starker Belichtung schematisch dargestellt, so geben die Mikrophotos in Abb. 28 eine Vorstellung von den natürlichen Verhältnissen. Die Betrachtung der Starklicht-Lage (Abb. 28b) und der Schwachlicht-Lage (Abb. 28a) von Plastiden der gleichen Zellgruppe zeigt die starken Vereinfachungen des Schemabildes in Abb. 9 auf. So besetzen z.B. in der extremen Schwachlicht-Lage die Plastiden die Fläche nahezu vollständig. Diese Flächenbesetzung ist einerseits eine Folge der relativ großen Anzahl von Plastiden pro Zelle und wird zum anderen durch die Fähigkeit der Chromatophoren unterstützt, sich Unregelmäßigkeiten der Zellwand insbesondere dort, wo mehrere Zellwände aufeinander stoßen, anzugleichen. Dabei arrangieren sie sich so, daß Zwischenräume zwischen den Einzelplastiden fast nicht mehr auftreten. Es sind somit in der Schwachlicht-Lage dünne, unregelmäßige Plastidenformen zu finden, die stark von der Linsenform abweichen (Abb. 29).

Bei einer Starklicht-Bestrahlung ist dagegen nicht nur eine Bewegung zu den Zellrändern hin, sondern auch, in Anpassung an den cytoplasmatischen Wandbelag, eine "Drehung" der Chromatophoren zu beobachten, so daß nur eine

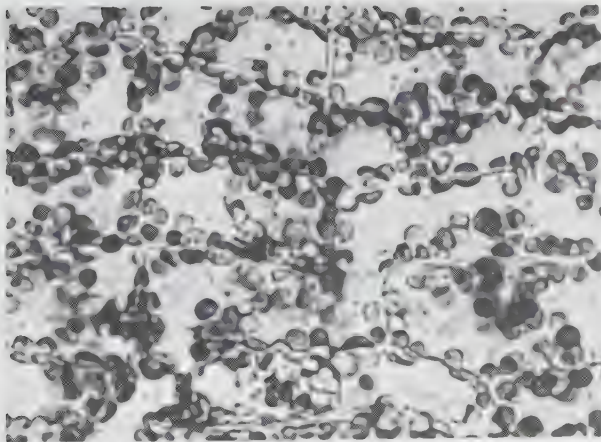
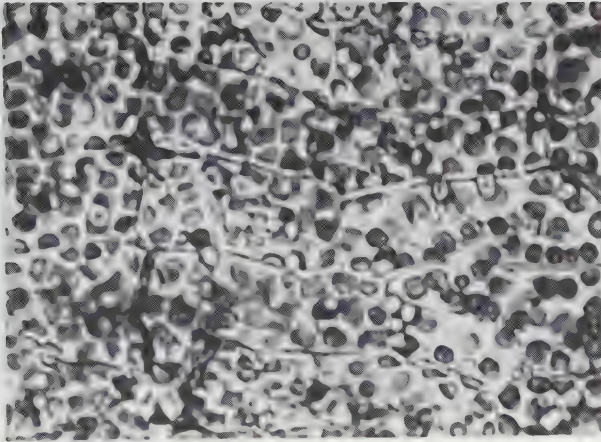


Abb. 28 a/b: Mikroaufnahmen eines Zellausschnittes von Dictyota mit Chromatophoren in Schwachlicht-Stellung (Abb. 28a) und in Starklicht-Stellung (Abb. 28b). Vergrößerung ca. 650-fach.

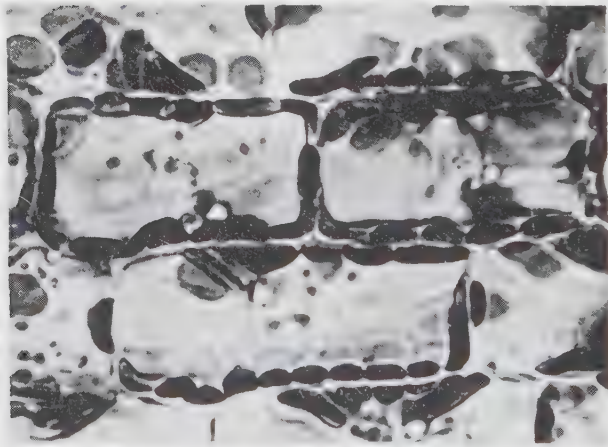
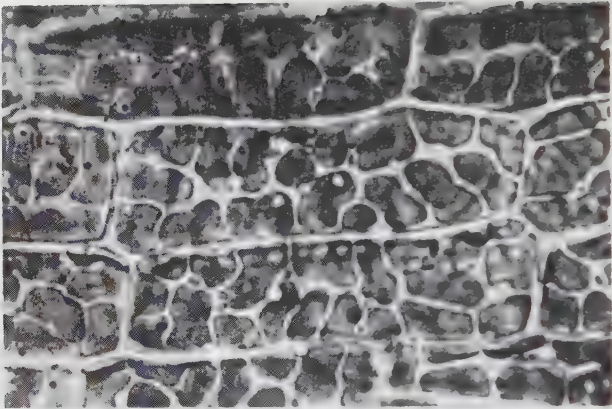


Abb. 29: Mikroaufnahme von Chromatophoren in Schwachlicht-Stellung. Beleuchtungsstärke 1.000 Lux; Vergrößerung ca. 4.000-fach

Abb. 30: Mikroaufnahme von Chromatophoren in Starklicht-Stellung. Beleuchtungsstärke 25.000 Lux; Vergrößerung ca. 4.000-fach.

schmale Kante dem einfallenden Licht zugewandt ist. Die in Abb. 9 dargestellte Schichtung der Chromatophoren spielt dabei eine nur untergeordnete Rolle. Die Abb. 30 verdeutlicht gut diese Extremstellung, die in dieser Klarheit erst nach längerer Bestrahlungsdauer (6 Stunden) und bei Intensitäten, die je nach Individuum zwischen 15.000 Lux und 25.000 Lux liegen können, erreicht wird.

Allerdings liegen die Verhältnisse bei Dictyota keineswegs so einfach, wie es die Mikrophotos in den Abb. 28 a und 28 b zu demonstrieren scheinen. Betrachtet man nämlich einen größeren Thallusabschnitt (Abb. 31 a und Abb. 31 b), so erkennt man, daß nur diejenigen Zellen, die nicht in unmittelbarer Nachbarschaft eines Zellkerns der Speicherzellen liegen, also insbesondere solche, die oberhalb oder unterhalb der Zellwände dieser Speicherzellen angeordnet sind, an der Reaktion teilnehmen. Es bildet sich somit ein Reaktionsmuster heraus, welches in etwa dem Verlauf der Zellwände der Speicherzellen folgt. Weiterhin zeigt sich, daß der Einfluß des Kernbereiches nicht etwa radial vom Zellkern allein bestimmt wird, sondern durch die räumliche Anordnung der an den Kern angelagerten Plastiden vorgegeben ist. Die Abb. 32 a mit dem Focus auf die Corticalzellen, sowie die Abb. 32 b mit dem Focus auf das Zentrum der darunter liegenden Speicherzelle verdeutlichen dieses.

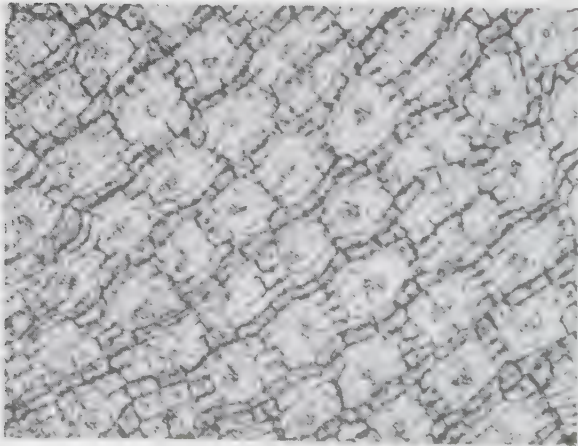
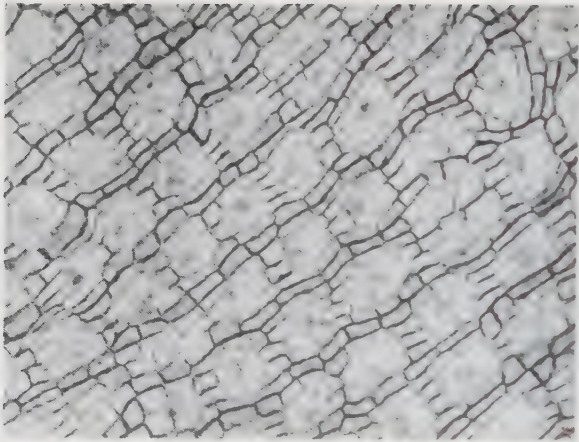


Abb. 31 a/b: Typisches Reaktionsmuster des speichernden und nicht reagierenden äußeren Schenkel eines *Chara*-Thallus bei einer Lichtintensität von 15.000 Lux. In Abb. 31a ist auf die Perizytenzellen, in Abb. 31b auf die Speichereellen focussiert. In dem Reaktionsmuster ist die Form der Speichereellen wiederzuerkennen. Vergrößerung ca. 350-700x.

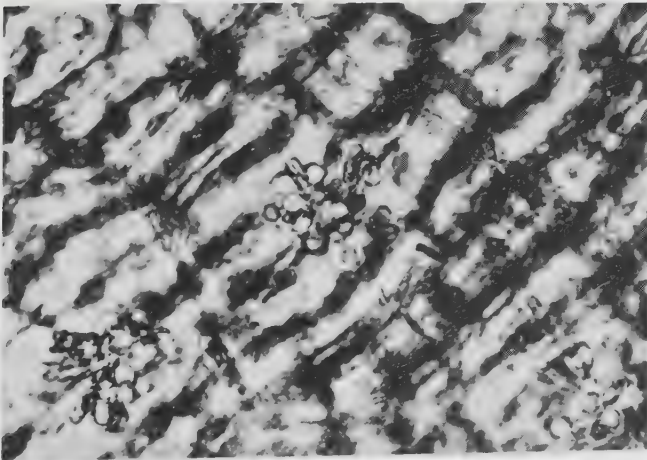
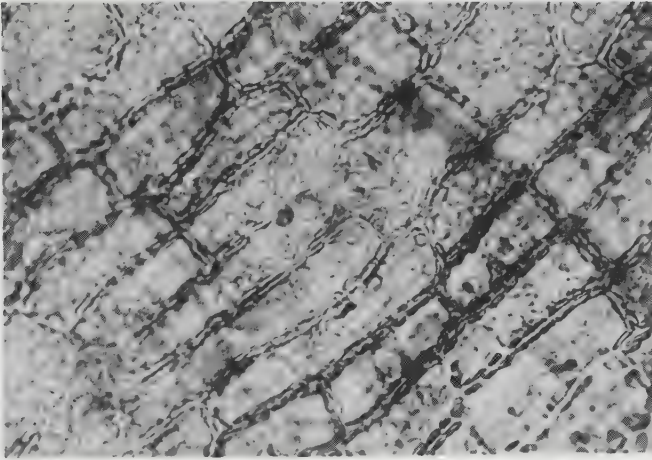


Abb. 32 a/b: Mikroaufnahme wie Abb. 31, jedoch mit höherer Vergrößerung (ca. 950-fach).

1.22 Quantitative Untersuchungen zum Bewegungsablauf im Starklicht und im Schwachlicht

In Abb. 14 F ist bereits der zu erwartende Verlauf der Transmissionsänderung als Maß des Reaktionsablaufes für die Starklichtbewegung und die Schwachlichtbewegung dargestellt worden. In Abb. 33 ist nun ein solcher typischer Ablauf, der einer Messung entnommen ist, wiedergegeben, wobei die Starklicht-Beleuchtungsstärke 20.000 Lx und die Schwachlicht-Beleuchtungsstärke 1.000 Lux betrug.

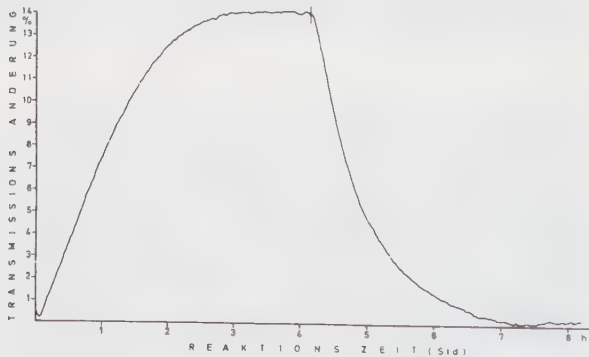


Abb. 33: Typisches Reaktions-/Zeit-Diagramm der Starklicht-Bewegung (ansteigender Kurvenast) und der Schwachlicht-Bewegung (abfallender Kurvenast).

Die Dauer einer vollen Teilreaktion (Schwachlicht- oder Starklichtreaktion) liegt bei durchschnittlich vier Stunden, während dem Reaktionsbeginn jeweils eine Latenzzeit von etwa einer Minute vorausgeht. Die Reaktionsamplitude, die hier, wie auch im folgenden, als prozentuale Trans-

missionsänderung ΔT angegeben wird, liegt zwischen maximal 4 und 25 % und ist bei Dictyota im wesentlichen vom Pigmentgehalt und damit auch vom Alter und der Vorbehandlung des Versuchsmaterials abhängig. Außerdem gehen in die gemessene Reaktionsgröße natürlich noch die individuellen Schwankungen des jeweils untersuchten Objektes ein.

Die angegebenen Änderungen der Transmission sind auf eine Basis von 100 % bezogen. Dieses entspricht im vorliegenden Falle der Lichtmenge, die durch das Objekt auf den Photomultiplier fällt, wenn die Chromatophoren im Objekt sich in der Schwachlichtlage befinden (siehe hierzu auch Abb. 14). Legt man jedoch als Basis die Lichtmenge zugrunde, die auf den Photomultiplier durch eine Küvette ohne Objekt fällt (also Verhältnisse, wie sie üblicherweise bei der Durchführung von spektrophotometrischen Messungen gegeben sind), so berechnen sich unter Berücksichtigung einer Thallus-"Weißlicht"-Transmission von 15% bis 25% die oben angegebenen Werte zu 6,25% im günstigsten und 0,6% im ungünstigsten Fall. Diese Daten mögen als Beweis für die Empfindlichkeit der beschriebenen Methode gewertet werden. Es muß jedoch an dieser Stelle darauf hingewiesen werden, daß die genannten Werte ausschließlich für den verwendeten Aufbau gelten. Änderungen der spektralen Emissionscharakteristik der verwendeten Lampen, sowie insbesondere die Verwendung anderer Kantenfilter (d) und Farbgläser (e), als in Abb. 11 angegeben, führen zu abweichenden Ver-

hältnissen.

Trägt man die Schwachlicht- und die Starklicht-Reaktion mit der gleichen Zeitachse beginnend, in ein Diagramm ein, so läßt sich in der Kinetik des Reaktionsablaufes ein deutlicher Unterschied erkennen (Abb. 34).

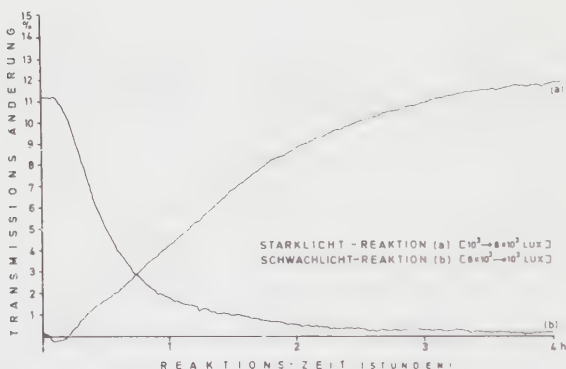


Abb. 34: Reaktions-/Zeit-Diagramm der Starklichtbewegung (a) und der Schwachlicht-Bewegung (b). Die Starklicht-Beleuchtungsstärke betrug 8.000 Lux , die Schwachlicht-Beleuchtungsstärke 1.000 Lux . Man beachte den im Vergleich zu Abb. 33 geänderten Zeitmaßstab.

Dieser Unterschied wird noch besser sichtbar, wenn die Schwachlicht-Reaktion aus Abb. 34 graphisch invertiert wird (Abb. 35), oder wenn, wie in Abb. 36 dargestellt, rechnerisch der Differentialquotient des Reaktionsverlaufes aufgetragen wird. Sieht man von dem relativ kurzen Übergangsverhalten direkt nach Einsatz der Starklicht- bzw. Schwachlicht-Bestrahlung ab, so zeigt die

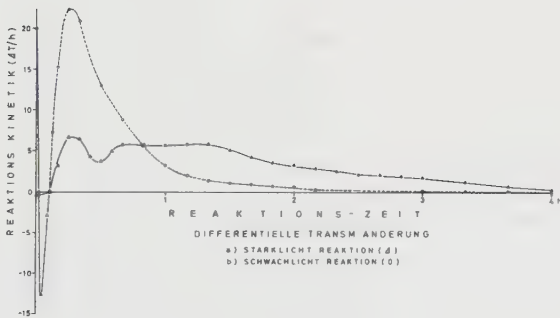


Abb. 35: Reaktions-/Zeit-Diagramm der Starklicht-Bewegung (a) und der Schwachlicht-Bewegung (b), wie Abb. 34. Zur Charakterisierung der unterschiedlichen Steilheiten ist die Schwachlicht-Reaktion graphisch invertiert.

Abb. 36: Rechnerisch aus Abb. 35 ermittelte Kinetik ($\Delta T/h$) der Starklicht-Bewegung (Dreiecke und durchgezogene Linie) und der Schwachlicht-Bewegung (Kreise und gestrichelte Linie). Das Diagramm der Schwachlicht-Bewegung ist, wie in Abb. 35, invertiert.

Schwachlicht-Reaktion eine maximale Steilheit von 22% Transmissionsänderung pro Stunde, ein Wert, der um den Faktor 3,3 höher liegt als der der Starklicht-Bewegung zur gleichen Zeit (17 Minuten) nach Belichtungsbeginn. Auch wenn die Steigung bei gleicher Reaktionsamplitude (50% der Maximalamplitude) verglichen wird, ist immerhin noch ein Unterschied um den Faktor 2,3 zu finden.

Häufig tritt, auf die Änderung der Objektbeleuchtung folgend, ein kurzzeitiger, inverser Reaktionsverlauf von etwa 5 bis 8 Minuten Dauer und einer Größe von ca. 1 bis 5 Prozent der maximalen Reaktionsamplitude auf. Diese Inversreaktion ist sowohl im Schwachlicht/Starklicht-wechsel als auch im umgekehrten Fall zu finden. Nähere Untersuchungen zu diesem Effekt wurden nicht durchgeführt. Daher kann eine Deutung hierfür nur hypothetischen Charakter haben. So wäre als Möglichkeit zunächst eine Verlagerung der Chromatophoren zu diskutieren. Die hohe Geschwindigkeit dieses Teilvorganges allerdings macht diese Deutung unwahrscheinlich. Zum anderen ist in der extremen Schwachlicht-Lage die Fläche häufig so dicht mit Plastiden besetzt, daß eine Verlagerung praktisch nicht mehr möglich erscheint. Direkte Beobachtungen ergeben jedenfalls keinen Hinweis hierfür.

Eine wahrscheinlichere Deutung dieses Effektes ist durch die Annahme einer kurzzeitigen Schwellung oder auch nur einer Flächenvergrößerung der Chromatophoren in der Schwachlicht-Lage gegeben. Eine Reihe von Untersuchungen

an isolierten Chloroplasten mit verschiedenen Methoden zeigen, daß diese bei Belichtung Gestalts- und Volumenänderungen erfahren können (PACKER 1963; ITOH, IZAWA and SHIBATA 1963; BELSKY, SIEGENTHALER and PACKER 1965). ZURZYCKI (1964, 1966) fand reversible Flächenänderungen sowohl bei in der lebenden Zelle befindlichen als auch an isolierten Chloroplasten von *Mnium*. Dabei bewirkt Rotlicht (668 nm) stets eine Vergrößerung der Fläche. Blaulicht (484 nm) hingegen wirkt flächenvergrößernd bei niedrigen und flächenverkleinernd bei hohen Intensitäten.

Das in dieser Arbeit verwendete Weißlicht weist bei den von ZURZYCKI (1966) angegebenen Wellenlängen ein Rot/Blau-Energieverhältnis von etwa 2,5 : 1 auf (s. Abb. 3).

Dieses Verhältnis würde somit für eine Flächenzunahme und damit für eine Transmissionsabnahme bei Beginn der Starklicht-Bestrahlung sprechen. Bei Beginn der Schwachlichtbestrahlung wäre der umgekehrte Vorgang zu beobachten, was die photometrischen Messungen bestätigen. Beiden Effekten überlagert sich der nach Belichtung einsetzende Bewegungsvorgang der Chromatophoren. Aufgrund der geringen Größe der Flächenänderung war eine Bestätigung dieser Annahme durch direkte Beobachtung der Chromatophoren im Meßfeld nicht möglich.

Schließlich könnten auch kurzzeitige Strukturveränderungen im Thylakoidbereich der Phaeoplasten, wie sie von MURAKAMI und PACKER (1970) bei *Ulva*- und *Porphyra*-Chro-

matophoren beobachtet wurden, sehr wohl das Transmissionsverhalten eines Dictyota-Thallus beeinflussen.

1.23 Langzeit-Versuche zur Chromatophorenbewegung unter einem konstanten Schwachlicht-/Starklicht-Wechsel

Nachdem das Photometer-System sich in Bezug auf die zu erwartenden Transmissionsänderungen als ausreichend empfindlich und stabil erwiesen hatte (s. Abb. 24), galt eine der ersten Untersuchungen der Frage, wie sich ein Versuchsobjekt in diesem Meßaufbau über eine längere Versuchsdauer verhält, m.a.W., wie gut die Durchflußküvette zusammen mit dem Umlauf-System für das Nährmedium der Forderung gerecht wird, einen genügenden Gas- und Nährstoff-Wechsel im Versuchsobjekt zu gewährleisten.

Dazu wurde die Alge einem stetigen Beleuchtungswechsel von jeweils vierstündiger Dauer mit konstanten Starklicht- bzw. Schwachlicht-Beleuchtungsstärken unterworfen. Die Durchführung dieses Belichtungsprogrammes wurde durch den Einsatz der oben beschriebenen Filterwechsel-Automatik, zusammen mit einer Schaltuhr als Zeitgeber erleichtert, so daß der Versuch lediglich einer gelegentlichen Kontrolle bedurfte.

Aus mehreren Vorversuchen hatte sich ergeben, daß Starklicht-Beleuchtungsstärken von 30.000 Lux und mehr zwar kurzzeitig von der Alge toleriert werden, jedoch bei längerer Einwirkungsdauer (mehrere Stunden) zu bleiben-

den Schädigungen führen (s.a. ZURZYCKI 1957). Dagegen werden Beleuchtungsstärken unterhalb von 10.000 Lux auch als Dauerbelichtung über Tage gut vertragen. Deshalb wurde die Starklicht-Beleuchtungsstärke in den Versuchen zum Langzeitverhalten auf 8.000 Lux festgelegt, obwohl dieses in der Regel keine völlige Starklichtlage hervorruft. Die Schwachlicht-Beleuchtungsstärke wurde dagegen auf 1.000 Lux eingestellt, ein Wert, der, wie die unten diskutierten Versuche zur Dosis-Effekt-Beziehung zeigen, als Optimum für die Schwachlichtlage angesehen werden kann.

Die Abb. 37 und die Abb. 38 stellen die Auswertung dieser Versuche dar, wobei die Amplituden der Starklicht-Reaktion (Abb. 37a) und der Schwachlicht-Reaktion (Abb. 37b) getrennt aufgetragen sind. Beide Reaktionen sind dadurch gekennzeichnet, daß die anfängliche Reaktionsamplitude von max. 14% ΔT während der ersten Versuchsphase abnimmt und nach etwa 10 Tagen einen Wert von ca. 5% ΔT erreicht, der sich bis zum Abbruch dieses Versuches nach 29 Tagen nicht mehr wesentlich ändert.

Da auch die Reaktionskinetik als Maß für den Zustand des Versuchsobjektes gewertet werden kann, wurde die Steilheit des Anstieges bzw. des Abfalls der Transmissionsänderung bei 30% der Reaktionsamplitude bestimmt und in Abb. 38a für die Starklicht-Bewegung, sowie in Abb. 38b für die Schwachlicht-Bewegung aufgetragen. Die Entscheidung, die Steilheit der Reaktion bei 30% der Amplitude

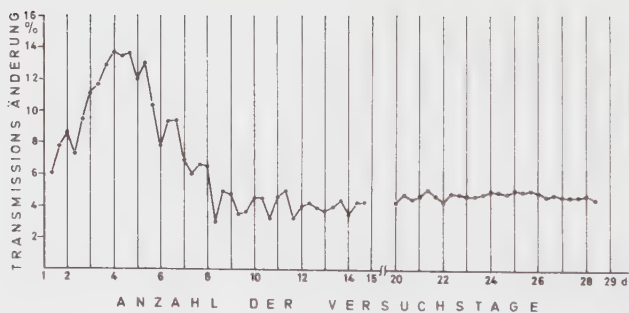
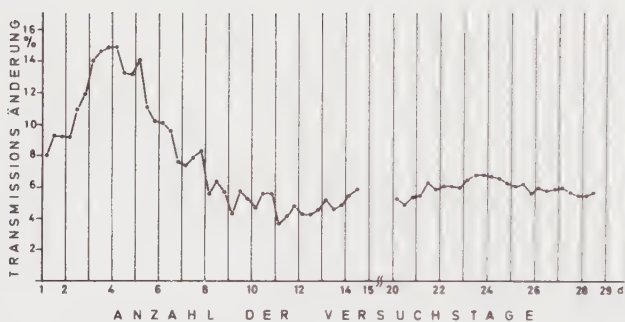


Abb. 37 a/b: Zeitliche Änderung der Transmission im Starklicht (Abb. 37a) und im Schwachlicht (Abb. 37b) bei einem konstanten Schwachlicht-/Starklicht-Wechsel von 1.000 Lux bzw. 8.000 Lux Beleuchtungsstärke über eine Versuchsdauer von 29 Tagen.

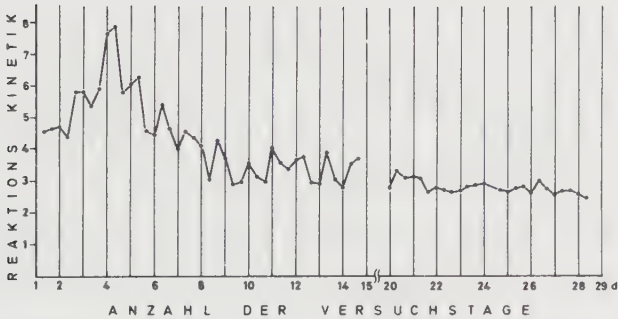
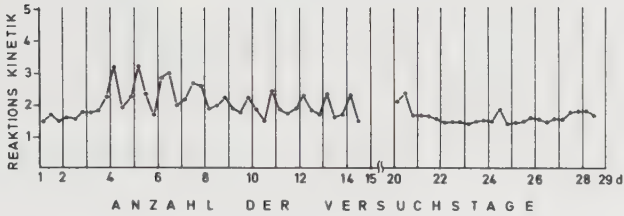


Abb. 38 a/b: Steilheit der Transmissionsänderung der Starklicht-Bewegung (Abb. 38a) und der Schwachlicht-Bewegung (Abb. 38b). Die Steilheitswerte wurden bei 30% der in Abb. 37 dargestellten Amplitudenwerte ermittelt.

zu bestimmen, resultiert aus den folgenden Überlegungen: Einerseits ist der Beginn der Bewegung, wie Abb. 34 und Abb. 36 zeigen, häufig von invers gerichteten, kurzfristigen Teilreaktionen überlagert (s.a. Abschnitt 1.22). Zum anderen setzt, insbesondere bei geringen Änderungen der Beleuchtungsstärke, bereits bei der Hälfte der Amplitude eine Verringerung der Reaktionsgeschwindigkeit ein. Der Fehler bei der Erfassung der Steilheit wird damit im Bereich der Extremwerte groß, so daß die Berechnung der Steilheit bei 30% der Reaktionsamplitude einen Kompromiß darstellt.

Für die Kinetik der Schwachlicht-Bewegung (Abb. 38b) ergibt sich ein qualitativ ähnlicher Verlauf wie für die Amplitude. Die Steilheit der Starklichtbewegung in Abb. 38a dagegen ändert sich, sieht man von den circadianen Schwankungen ab, kaum während der Versuchsdauer. Zum anderen wird in diesen beiden Darstellungen deutlich demonstriert, daß die Steilheit der Starklicht-Bewegung auch über längere Versuchszeiten stets kleinere Werte als die Schwachlicht-Bewegung aufweist.

Eine endgültige Aussage darüber, wie lange ein Dictyota-Thallusteil unter den gegebenen Versuchsbedingungen lebensfähig ist, kann aufgrund dieses Versuches noch nicht gemacht werden. Mit Sicherheit darf jedoch angenommen werden, daß, auch wenn die Amplitude einen starken Rückgang während des ersten Drittels des Experimentes zeigte, dieses nicht zugleich als Zeichen für eine Schä-

digung des Untersuchungsobjektes zu werten ist. Diese Annahme wird gestützt durch die im Abschnitt IV.3.31 (Induktion der circadianen Rhythmik) diskutierten Versuche, die sich - allerdings mit einem Zwischenprogramm - über eine Gesamt-Versuchsdauer von 50 Tagen erstreckten. Zum anderen erwiesen im Anschluß an diese Versuche mit demselben Objekt erfolgreich durchgeführte Kultur-Experimente, daß das Versuchsmaterial voll lebensfähig war.

1.3 Untersuchungen zur Dosis-Effekt-Beziehung im Weißlicht

Die eingangs diskutierten Begriffe "Dunkel-, Schwachlicht- und Starklicht-Lage" sind im engeren Sinne eigentlich nur die Definitionen für die möglichen Extremlagen, die die Plastiden in einer Zelle unter entsprechenden Lichtbedingungen einnehmen können. Jedoch wurde bereits früher von den verschiedensten Autoren erkannt, daß nicht alle Chromatophoren einer Zelle gleichmäßig reagieren (BABUSKIN 1955a,b; BIEHL 1954; VOERKEL 1954; SUREYOKI 1954), sondern daß, wie HAUPT (1959) es beschreibt, bestimmte Beleuchtungsstärken "Verteilungen" der Plastiden hervorrufen, die zwischen der Dunkel-Lage und Schwachlicht-Lage bzw. zwischen der Schwachlicht- und der Starklicht-Lage einzuordnen sind. Eine Ausnahme scheint indessen die Süßwasser-alge *Mougeotia* darzustellen, deren plattenförmiger Chloroplast bei schwacher Belichtung die Fläche dem Licht zuwendet und bei starker Belichtung die Kante. Zwischenlagen werden offenbar für längere Zeit nicht beibehalten.

Dieser Abschnitt soll nun klären, ob *Dictyota*, ebenso wie *Mougeotia*, lediglich zwei Extremlagen (die Frage der Dunkel-lage sei ausgeklammert) aufweist, oder ob sie zu der großen Gruppe der Pflanzen zuzuordnen ist, bei denen eine quantitative Beziehung zwischen Beleuchtungsstärke und Chromatophorenanzahl in Flächenstellung bzw. Profilstellung besteht. Hierzu wurden zwei Versuchsserien durchgeführt:

1.31 Untersuchungen zur Abhängigkeit der Chromatophoren-
Verlagerung von der Starklicht-Beleuchtungsstärke
im periodischen Wechsel mit einer konstanten
Schwachlicht-Beleuchtungsstärke.

Dictyota Thalli aus einer 15°C Dauerlichtkultur wurden in die Durchflußküvette eingesetzt und 12 Stunden unter dem Photometer an eine Schwachlicht-Beleuchtungsstärke von 1.000 Lux adaptiert. Aus Vorversuchen hatte sich ergeben, daß eine Beleuchtungsstärke zwischen 500 Lux und 2.500 Lux die extreme Schwachlicht-Lage der Chromatophoren herbeiführt. Diese Annahme wird auch noch anhand der Ergebnisse des nächsten Abschnittes näher erläutert werden.

Nach dieser Adaptationszeit von 12 Stunden hatte sich ein konstanter Transmissionsgrad eingestellt, und eine visuelle Inspektion des Meßfeldes zeigte eine gleichmäßige Anordnung der Plastiden in den zur optischen Achse senkrecht stehenden Zellflächen. Nur sehr vereinzelt waren auch in den Fugenwänden Phaeoplasten zu beobachten. Diese erwiesen sich jedoch als bewegungsunfähig.

Das auf diese Weise vorbehandelte Versuchsobjekt wurde einem Starklicht-/Schwachlicht-Wechsel unterworfen, wobei als Schwachlicht-Beleuchtungsstärke 1.000 Lux gewählt wurde, während die Starklicht-Intensität zwischen 2.000 Lux und 12.000 Lux variiert wurde. Die Abb. 39 demonstriert den zeitlichen Ablauf eines solchen Versuches. Es wird hieraus deutlich, daß das Extrem der

Starklicht-Lage bei Beleuchtungsstärken von etwa 12.000 Lux auftritt, während die Chromatophoren bei niedrigeren Beleuchtungsstärken stabile Zwischenlagen einnehmen.

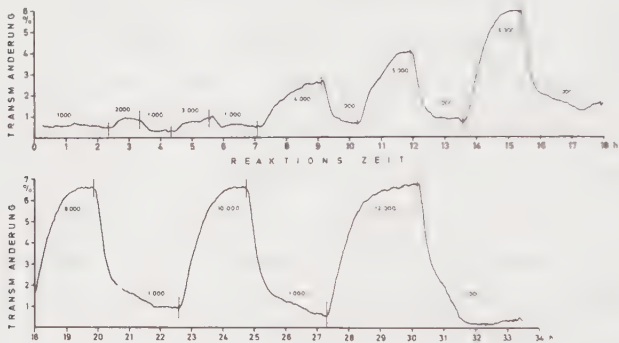


Abb. 39: Zeitlicher Verlauf der Transmissionsänderung in einem Wechsellicht-Programm. Die Basis-Schwachlicht-Beleuchtungsstärke betrug unverändert 1.000 Lux. Die Starklicht-Beleuchtungsstärke wurde schrittweise von 2.000 Lux bis auf 12.000 Lux variiert.

In einem weiteren, nicht dargestellten Parallel-Versuch ergab sich die extreme Starklicht-Lage bei einer Beleuchtungsstärke von etwa 14.000 Lux. Aus diesem Versuch wurden nun alle Starklichtreaktionen in ein Diagramm so eingezeichnet, daß der Reaktionsbeginn aller Einzelreaktionen in einen gemeinsamen Ursprung zusammenfällt. Die Abszisse gibt damit die Dauer der Einzelreaktion wieder, während auf der Ordinate die Änderung der Transmission aufgetragen ist (Abb. 40a). Parameter dieser Kurvenschar

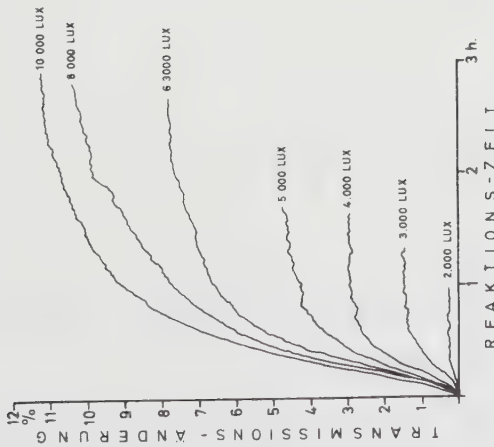
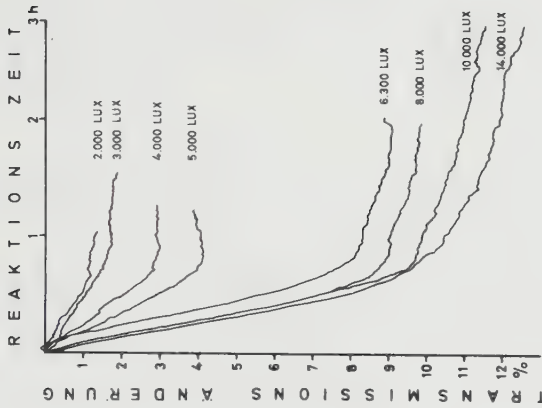


Abb. 40 a/b: Zeitliche Änderung der Transmission im Starklicht (Abb. 40a) und im Schwachlicht (Abb. 40b) in einer Versuchsserie ähnlich der in Abb. 39 dargestellten, jedoch mit geändertem Zeitmaßstab. Der Beginn der jeweiligen Einzelreaktion wurde auf einen gemeinsamen Ursprung transformiert.

ist die Beleuchtungsstärke. Der Zeitmaßstab dieser Abbildung ist aus Gründen der übersichtlicheren Darstellung um den Faktor zwei gegenüber der Abb. 39 gedehnt. Aus den gleichen Gründen sind die Reaktionen für die Beleuchtungsstärken von 12.000 Lux und 14.000 Lux nicht eingezeichnet.

Für die Schwachlicht-Reaktion, die in Abb. 40b wiedergegeben ist, wurde entsprechend verfahren.

Die eigentliche Dosis-Effekt Beziehung der Starklicht-Reaktion läßt sich aus der Kurvenschar in Abb. 40a leicht ermitteln. Im allgemeinen Fall müßte, um mathematisch exakt zu sein, die Bestimmung der Größe des Transmissionswertes bei einer festen Reaktionszeit erfolgen. In diesem Diagramm 40a, in dem die Reaktionen in Plateaus münden, die sowohl einander als auch der Zeitachse parallel sind, können die Reaktionswerte bei verschiedenen Zeiten, nämlich am Ende des jeweiligen Versuches, abgenommen werden. Die resultierende Dosis-Effekt-Kurve (Abb. 41) zeigt einen sigmoiden Verlauf. Aus dem Diagramm ist zu erkennen, daß die äußerste Randlage mit etwa 12% Transmissionsänderung bei 14.000 bis 15.000 Lux erreicht wird, wobei die bezogen auf eine Intensitätsänderung ΔI stärkste Transmissionsänderung ΔT bei einer Beleuchtungsstärke von etwa 6.000 Lux liegt.

Es ergibt sich hier die Frage, ob die Kinetik der Bewegung eine von der Amplitude und somit von der Beleuchtungsstärke abhängige Größe ist. Dazu wurde, wie bereits zu-

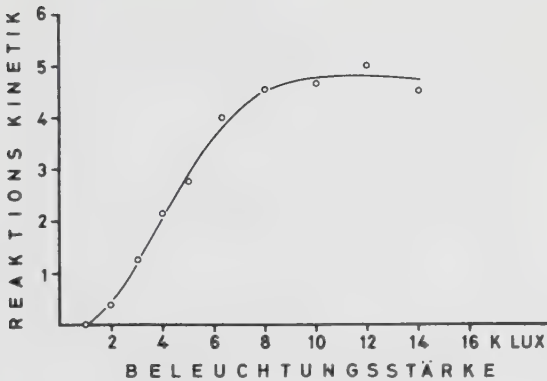


Abb. 41: Dosis-Effekt-Diagramm der Amplitude bei konstanter Schwachlicht-Beleuchtungsstärke von 1.000 Lux und Variation des Starklichts.

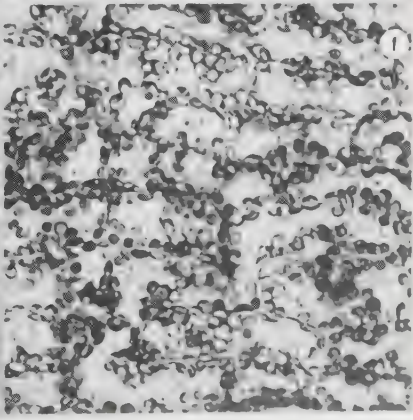
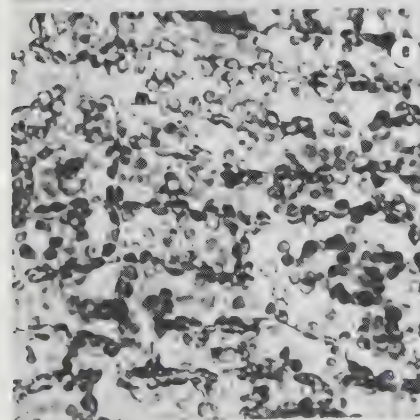
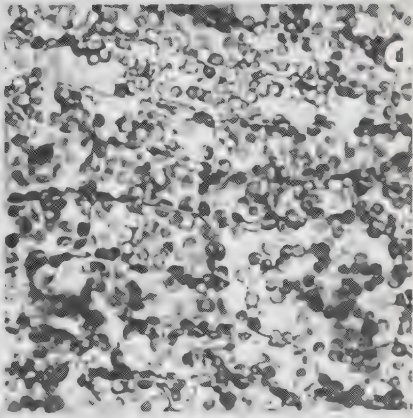
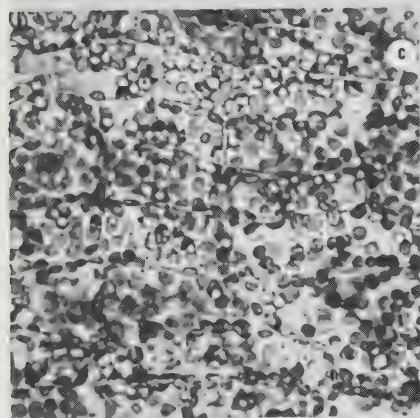
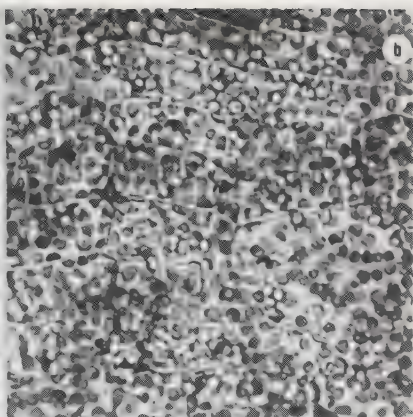
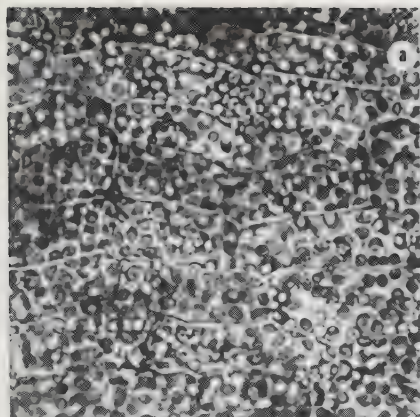
Abb. 42: Dosis-Effekt-Diagramm der Steilheit der Transmissionsänderung bei konstanter Schwachlicht-Beleuchtungsstärke von 1.000 Lux und Variation des Starklichts. Die Steilheitswerte wurden bei 30% der Amplitudenwerte aus Abb. 41 bestimmt.

vor beschrieben, die Reaktionssteilheit bei einem Drittel der maximalen Amplitude bestimmt und in Abb. 42 aufgetragen. Es zeigt sich, daß sowohl die Amplitude als auch die Reaktionsgeschwindigkeit in ähnlicher Weise von der Beleuchtungsstärke abhängen: ein flacher Anstieg, gefolgt von einem steilen Mittelteil mündet schließlich in den Sättigungsbereich.

Mehrere Versuche dieser Art, die zu verschiedenen Jahreszeiten durchgeführt wurden, lassen einen ähnlichen Verlauf erkennen. Die ermittelten Werte unterliegen jedoch gewissen Schwankungen. So wurden z.B. für die zur Induktion einer extremen Starklicht-Lage erforderlichen Beleuchtungsstärken, je nach Individuum und Vorbehandlung, Werte zwischen 12.000 Lux und 25.000 Lux ermittelt. Diese Versuchsserie zeigt jedoch eindeutig, daß der Organismus fähig ist, Beleuchtungsstärken absolut zu messen und mit einer entsprechenden Verteilung seiner Plastiden zu reagieren.

Dieses wird auch durch die in Abb. 43 a-f dargestellte Mikrophotoserie belegt, in der verschiedene Phasen der Starklicht-Bewegung festgehalten sind.

Abb. 43 a-f: (s. Seite 83). Mikrophoto-Serie der Chromatophoren-Verlagerung unter Starklicht-Bestrahlung. a: Chromatophoren-Lage bei Beginn der Bestrahlung. b: Reaktion nach 15 Minuten. c: Reaktion nach 45 Minuten. d: Reaktion nach 1,5 Stunden. e: Reaktion nach 3 Stunden. f: Reaktion nach 6 Stunden.



1.32 Untersuchungen zur Abhängigkeit der Chromatophoren-
Verlagerung von der Schwachlicht-Beleuchtungsstärke
im periodischen Wechsel mit einer konstanten Stark-
licht-Beleuchtungsstärke.

In einer zweiten Versuchsserie wurde entsprechend, aber umgekehrt wie im vorigen Abschnitt verfahren, d.h. die Starklicht-Beleuchtungsstärke wechselte mit einer Schwachlicht-Beleuchtungsstärke, die zwischen 18.000 Lux und 1.000 Lux variiert wurde.

Die Abb. 44 gibt die Reaktionsdiagramme, die analog der Abb. 40 auf einen gleichen zeitlichen Ursprung transformiert wurden, wieder. Aufgetragen ist nur die Schwachlicht-Reaktion. Die Starklicht- Beleuchtungsstärke wurde aufgrund der Ergebnisse des vorigen Abschnitts auf einen Wert von 20.000 Lux festgelegt.

Das daraus abgeleitete Dosis-Effekt-Diagramm für das Schwachlicht-Verhalten bei konstantem Starklicht ist in Abb. 45 wiedergegeben. Wie erwartet, gehorcht die Schwachlicht-Reaktion einem invers sigmoiden Verlauf. Auch die Frage nach der Beleuchtungsstärke für die Induktion der extremen Schwachlicht-Lage kann nun mit den Ergebnissen dieses Abschnitts geklärt werden. Diese Intensitäten liegen, berücksichtigt man noch weitere Versuche, die in ähnlicher Weise durchgeführt wurden, zwischen 500 Lux und 2.500 Lux.

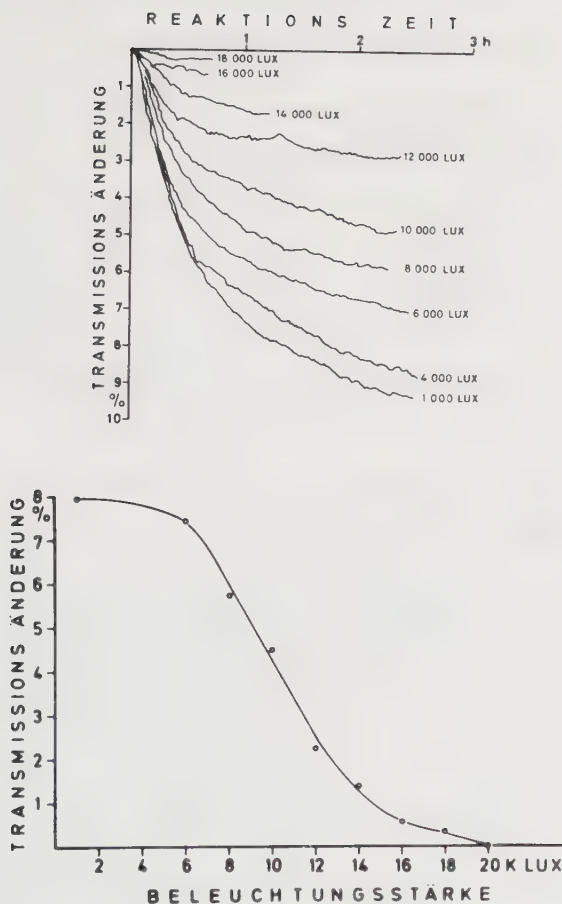


Abb. 44: Darstellung der zeitlichen Änderung der Transmission im Schwachlicht. Die Basis-Starklicht-Beleuchtungsstärke betrug 20.000 Lux. Die "Schwachlicht"-Beleuchtungsstärke wurde stufenweise zwischen 18.000 Lux und 1.000 Lux variiert.

Abb. 45: Aus der Darstellung der Abb. 44 berechnete Dosis-Effekt-Beziehung bei konstanter Starklicht-Beleuchtungsstärke und Variation des Schwachlichts.

2. Untersuchungen zur Reiz-Beantwortung bei geringen Unterschieden der Beleuchtungsstärke

Dieser Abschnitt ist in zwei Teile aufgegliedert. Der erste Teil greift die im vorigen Abschnitt aufgeworfene Frage des Maximums der Reizbeantwortung noch einmal unter dem Aspekt der experimentellen Bestimmung des Differenzenquotienten der lichtinduzierten Chromatophorenbewegung auf, während der zweite Teil zur Frage der Unterschieds-Empfindlichkeit beitragen soll.

2.1 Iterative Änderung der Beleuchtungsstärke vom Schwachlicht zum Starklicht

Im Abschnitt "Dosis-Effekt-Beziehungen" wurde die alternativ zum Schwachlicht gebotene Starklicht-Bestrahlung immer erst dann gegeben, wenn die Chromatophoren wieder in ihre extreme Schwachlicht-Lage zurückgekehrt waren. In dieser Versuchsserie wurde dagegen die Starklicht-Bestrahlung, mit dem Schwachlichtwert von 1.000 Lux beginnend, stufenweise um gleiche Beträge von 1.000 Lux erhöht. Die Intensitätserhöhung erfolgte jedoch immer erst dann, wenn die Reaktion ein neues Plateau erreicht hatte. Die Abb. 46 gibt den zeitlichen Ablauf dieses Experimentes wieder.

Man erkennt, daß die Veränderungen der Beleuchtungsstärke mit mehr oder minder großen stufenweisen Änderungen der Transmission beantwortet werden, die in der Regel in Plateaus münden. Um eine bessere Übersicht zu

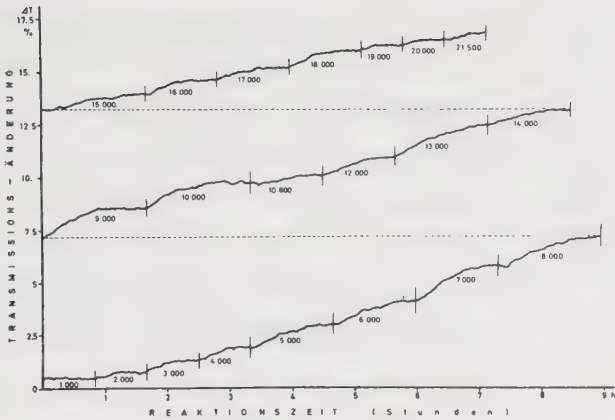


Abb. 46: Zeitlicher Verlauf der Starklicht-Bewegung bei iterativer Änderung der Beleuchtungsstärke um konstante Beträge von 1.000 Lux. Aus Gründen der Strahlungsbelastung im Objekt und der damit verbundenen Ausbleicheffekte wurde der Versuch bei 21.500 Lux abgebrochen.

erhalten, wurden die jeweils durch die Erhöhung um 1.000 Lux verursachten Transmissionszunahmen dem absoluten Wert der Beleuchtungsstärke zugeordnet und in Abb. 47 aufgetragen.

Dieses Verfahren, die Transmissionsunterschiede bei diesen geringen Änderungen der Beleuchtungsstärke zu erfassen, ist natürlich mit relativ großen Fehlern behaftet, da hierbei normale Unregelmäßigkeiten in der Verlagerung in die Größenordnung der lichtinduzierten Bewegung der Chromatophoren kommen, und es somit schwieriger wird,

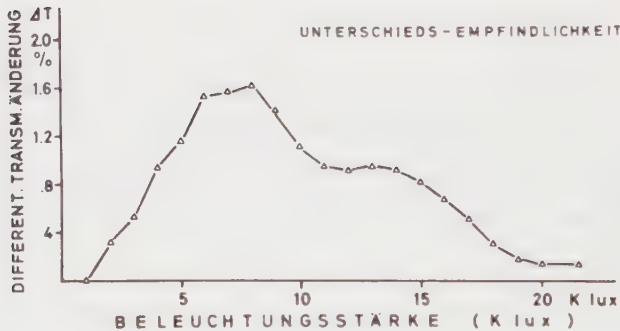


Abb. 47: Beträge der Transmission aus Abb. 46, bezogen auf die Änderung der Beleuchtungsstärke von 1.000 Lux und über den absoluten Wert der Beleuchtungsstärke aufgetragen.

Abb. 48: Wie Abb. 47, jedoch jeweils drei aufeinander folgende Werte gemittelt (Ausgleichskurve).

Signalgröße und Rauschanteil zu trennen. Entsprechend stark streuen die ermittelten Werte, so daß die Berechnung einer Ausgleichskurve sinnvoll erschien (Abb. 48). Die eigentliche Aussage dieser beiden letzten Diagramme liegt darin, daß hier auf direktem Wege der Verlauf des Differenzen-Quotienten der Dosis-Effekt-Beziehung gewonnen wurde. Die Integration des in Abb. 48 dargestellten Kurvenverlaufes führt somit zur Dosis-Effekt-Beziehung selbst und damit zu Abb. 49.

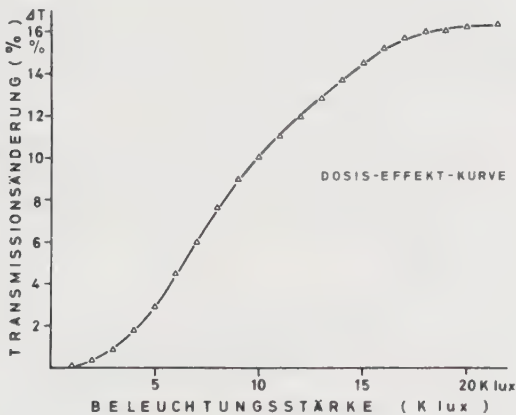


Abb. 49: Dosis-Effekt-Beziehung der Starklicht-Bewegung, bestimmt durch Integration des Kurvenverlaufs in Abb. 48.

Stellt man dieses Diagramm der durch direkte Messung gewonnenen Dosis-Effekt-Beziehung gegenüber (Abb. 41), so ist die Übereinstimmung im Verlauf evident, wenn sich auch die absoluten Werte aus den o.a. Gründen unterscheiden. Zum anderen stützt die Darstellung

des Differenzenquotienten die bereits früher gemachte Aussage, daß im Bereich mittlerer Beleuchtungsstärken ein Maximum der Reizbeantwortung zu finden ist, wobei deutlich wird, daß sich dieses Maximum über einen breiten Intensitätsbereich erstreckt.

2.2 Iterative Änderung der Beleuchtungsstärke vom Starklicht zum Schwachlicht

In Analogie zu dem vorigen Abschnitt, sowie in Erweiterung der vorbeschriebenen Versuche zur Abhängigkeit der Chromatophoren-Verlagerung von der Schwachlicht-Beleuchtungsstärke im periodischen Wechsel mit einer konstanten Starklicht-Beleuchtungsstärke, bildet den Ausgangspunkt dieser Versuchsserie eine Starklicht-Beleuchtungsstärke von 21.500 Lux (Abb. 50)

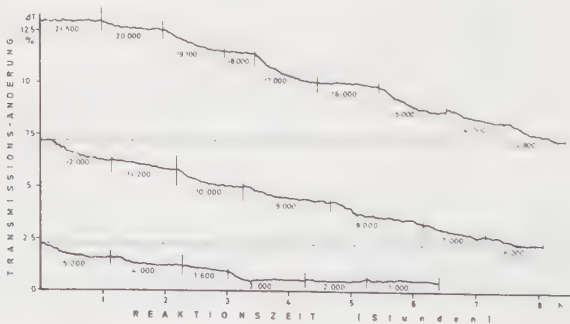


Abb. 50: Zeitlicher Verlauf der Schwachlicht-Bewegung bei iterativer Änderung der Beleuchtungsstärke um konstante Beträge von 1.000 Lux. Diese Versuchsserie wurde bei 1.000 Lux als niedrigster Beleuchtungsstärke abgebrochen, da die Transmissionsänderungen in der Größenordnung des Rauschens liegen.



Abb. 51: Beträge der Änderung der Transmission aus Abb. 50, bezogen auf eine Änderung der Beleuchtungsstärke von 1.000 Lux.

Abb. 52: Wie Abb. 51, jedoch jeweils drei aufeinander folgende Werte gemittelt (Ausgleichskurve).

Von dieser Intensität ausgehend, wurde die Starklicht-Beleuchtungsstärke in konstanten Schritten von 1.000 Lux bis zu der Beleuchtungsstärke für die extreme Schwachlichtlage (1.000 Lux) erniedrigt.

Für die Darstellung des direkten und des auf gleiche Weise, wie im vorigen Abschnitt beschrieben, gemittelten Differenzen-Quotienten (Abb. 51 und Abb. 52) ergeben sich ähnliche Kurvenverläufe wie in Abb. 47 und Abb. 48. Auch hier führt die Integration (formal ist als obere Grenze 1.000 Lux und als untere Grenze 21.500 Lux einzusetzen) zu einer Dosis-Effekt-Beziehung (Abb. 53), deren Verlauf dem in Abb. 45 aufgetragenen Dosis-Effekt-Diagramm sehr ähnlich ist.

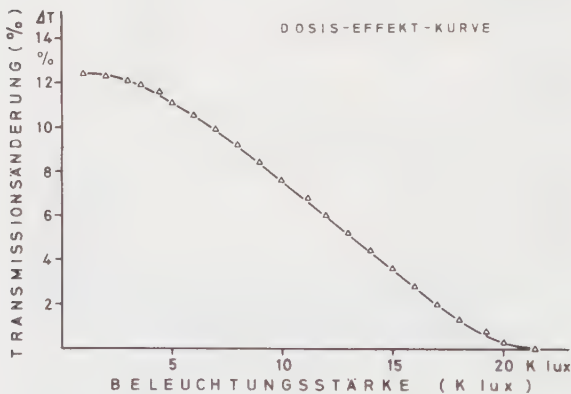


Abb. 53: Dosis-Effekt-Beziehung der Schwachlicht-Bewegung, bestimmt durch Integration des Kurvenverlaufs in Abb. 52.

2.3 Bestimmung der Unterschiedsschwelle für Änderungen der Beleuchtungsstärke im Maximum der Reizbeantwortung

Untersuchungen über das phototaktische Verhalten einzelliger Grün- und Blaualgen, Gameten vielzelliger Pflanzen, sowie Purpurbakterien führte zu der Feststellung, daß Reaktionen auf eine Änderung eines Außenfaktors eine Funktion der Größe dieses Faktors selbst ist. Nach WEBER läßt sich dieses Gesetz so formulieren: die kleinst-mögliche, gerade noch vom Organismus wahrnehmbare Änderung eines Außenfaktors (z.B. Licht, Temperatur, pH-Wert) steigt linear mit dem Anfangswert dieses Faktors. Oder, auf den speziellen, hier interessierenden Fall "Licht" bezogen: wenn die Intensität der Beleuchtung z.B. abrupt vom Wert I_0 auf den Wert $I_0 + \Delta I$ (oder auch $I_0 - \Delta I$) geändert wird, so ist die Unterschiedsschwelle $\Delta I/I_0$ eine Konstante für alle Werte von I_0 . Dieses Gesetz verliert natürlich seine Gültigkeit bei sehr niedrigen Grund-Beleuchtungsstärken, was einleuchtend ist, wenn I_0 sich dem Wert Null nähert.

Über die Unterschiedsschwelle bei der lichtinduzierten Plastiden-Verlagerung liegen bisher keine Angaben vor. Die in dieser Arbeit beschriebene Methode läßt jedoch eine genügende Auflösung zu, um auch Änderungen der Größenordnung zu erfassen, wie sie aus Untersuchungen des phototaktischen Verhaltens bei Purpur-Bakterien bekannt sind: $\Delta I/I_0 = 0,03 - 0,05$ (CLAYTON 1953a,b; SCHLEGEL 1956; SCHRAMMECK 1934). In diesem Abschnitt

werden entsprechende Daten für die Chromatophoren-Verlagerung bei Dictyota erarbeitet. Inwieweit die Gültigkeit dieser Befunde auch auf andere Objekte ausgedehnt werden kann, müssen weitere Versuche klären.

Aus den Ergebnissen des Abschnitts "Dosis-Effekt-Beziehungen" und aus den Darstellungen des Differenzenquotienten (Abb. 47 und Abb. 48, sowie Abb. 51 und Abb. 52) kann für Dictyota ein Maximum der Reizbeantwortung bei Beleuchtungsstärken im Bereich zwischen 5.000 Lux und 15.000 Lux abgelesen werden. Dieses Maximum zeigt, wie bereits festgestellt wurde, einen relativ flachen Verlauf, so daß der Geltungsbereich des WEBER'schen Gesetzes zumindest für den geradlinigen Kurventeil der Dosis-Effekt-Beziehung angenommen werden darf. Aus Gründen der Strahlungsbelastbarkeit des Versuchsobjektes wurde jedoch in den Versuchen dieses Abschnittes die Grundbeleuchtung I_0 nahe der unteren Grenze des Maximums der Reizbeantwortung, nämlich auf 6.000 Lux festgesetzt. Von dieser Basis ausgehend wurde die Objektbeleuchtung zyklisch um den Betrag ΔI vermindert und wieder erhöht, wobei die Beträge ΔI nach jedem zweiten Schritt geändert wurden. Die Abb. 54, aber auch die Abb. 46 und die Abb. 50 verdeut-

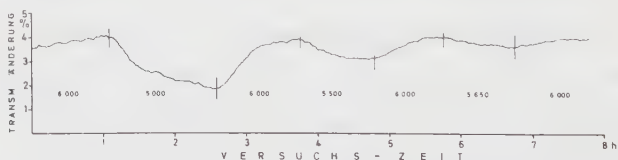


Abb. 54: Zeitablauf der Transmissionsänderung im Maximum der Reizbeantwortung.

lichen, daß Differenzen der Beleuchtungsstärke von unter 1.000 Lux bei der o.g. Basisbeleuchtung vom Organismus noch sicher erfaßt werden und zu einer gut meßbaren Reaktion führen.

In einem weiteren Versuch wurde die Intensitäts-Differenz bis auf einen Wert von 230 Lux vermindert, was einem Wert $\Delta I/I_0 = 3,8\%$ entspricht (Abb. 55). Wenn auch dieser

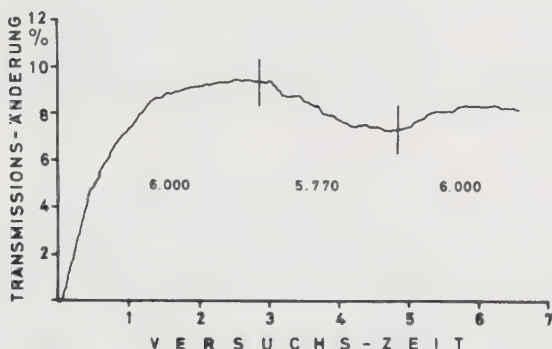


Abb. 55: Zeitablauf der Transmissionsänderung im Maximum der Reizbeantwortung. Die Basis-Beleuchtungsstärke von 6.000 Lux wurde um den Betrag von $\Delta I = 230$ Lux variiert.

Unterschied in der Beleuchtungsstärke während der ersten zwei oder drei Beleuchtungswechsel zu einer deutlichen Reaktion führt, so darf nicht übersehen werden, daß bei mehrfachem Wechsel infolge Abstumpfung die Reaktionsamplituden immer kleiner werden. Die Abb. 56 zeigt den Reaktionsablauf bei einem solchen mehrfachen Wechsel der Beleuchtungsstärke um den konstanten Betrag von $\Delta I = 230$ Lx. (Es ist an dieser Stelle zu vermerken, daß der Wert von

T_i	Transmissionsänderung der Einzelreaktion
d	konstante Driftrate, gemessen in $\% \Delta T / \text{Std.}$
t_i	benötigte Zeit für eine Einzelreaktion
i	Index der Einzelreaktion
n	Anzahl der Einzelreaktionen

Die Auswertung der Abb. 56 ergibt für die Beleuchtungsstärke von 5.770 Lux einen mittleren Wert von

$$T_{M5770} = 0,258 \% \Delta T$$

und für die Beleuchtungsstärke von 6.000 Lux den Wert von

$$T_{M6000} = 0,235 \% \Delta T$$

Der geringste Beleuchtungsunterschied in dieser Versuchsserie betrug 90 Lux, entsprechend einem Wert von $\Delta I/I_0 = 1,5\%$. Hierbei war keine signifikante Reaktion mehr festzustellen, so daß die Unterschiedsschwelle für Dictyota bei etwa 3 bis 4 Prozent angesetzt werden muß. Dieser Wert liegt in sehr guter Übereinstimmung mit den für Purpurbakterien und Cyanophyceen bekannten Daten (CLAYTON 1959; NULTSCH und HÄDER 1970).

3. Beobachtung circadianer rhythmischer Phänomene
bei der Chromatophorenbewegung von Dictyota.

Aus einer großen Anzahl von Beobachtungen und Versuchen ist bekannt, daß verschiedene physiologische Vorgänge sowohl im Bereich der Pflanzen- und Tierwelt, als auch beim Menschen rhythmischen Schwankungen unterliegen. Diese Schwankungen orientieren sich in manchen Fällen an dem Tageswechsel, in anderen Fällen wiederum an der lunaren Periodik.

Vor kurzer Zeit erst ist aus zwei unabhängig von uns arbeitenden Gruppen auch über die Existenz einer Tagesperiodik der Chromatophorenbewegung berichtet worden (FLOHRS und HAUPT 1971; BRITZ and SELIGER 1973).

Zum Zeitpunkt der in dieser Arbeit durchgeführten Untersuchungen war noch nicht bekannt, daß auch die Chromatophorenbewegung einer Rhythmik unterworfen sein könnte. Um so überraschter waren wir, als sich in den Versuchen zum Langzeit-Verhalten (Abschnitt 1.23) herausstellte, daß die bei Dictyota gemessenen Transmissionsänderungen regelmäßige periodische Schwankungen aufwiesen, die sich bei genauerer Betrachtung mit einem circa-24-Stunden-Rhythmus korrelieren ließen, und die im Abschnitt 1.23 vorausgreifend bereits als "circadiane" Schwankungen angesprochen wurden.

Die Tatsache, daß diese eine von der 24-Stunden-Periodik abweichende Periodenlänge aufwiesen, zeigt, daß nicht

etwa ein versteckter diurnaler Zeitgeber für die Oszillationen verantwortlich war. Die in den folgenden Abschnitten beschriebenen Untersuchungen sollen diese Oszillationen näher charakterisieren und auf die Bedingungen eingehen, unter denen eine Periodik in der Chromatophorenverlagerung auftritt.

3.1 Bewegungsablauf der Chromatophorenverlagerung in unter tagesperiodisch wechselnden Lichtbedingungen angezogenen Kulturen.- Messungen in einem periodischen Schwachlicht-/Starklicht-Wechsel.

Nach der von BÜNNING gegebenen Definition liegt ein physiologisch tagesrhythmisches Verhalten nur dann vor, wenn alle rhythmisch steuernden Außenfaktoren ausgeschaltet werden. Wenn also Dictyota in einem rhythmischen Hell/Dunkel-Wechsel mit einer Cycluszeit von 24 Stunden kultiviert wurde und zum anderen die lichtinduzierte Plastidenverlagerung einer endogenen Rhythmik unterworfen ist, so müßte sich dieses auch in einer circadianen rhythmischen Änderung des Transmissionsverhaltens bemerkbar machen.

Die Untersuchungen des Abschnittes Dosis-Effekt-Beziehungen ergaben, daß Dictyota auf definierte Beleuchtungsstärken mit definierten Phaeoplasten-Lagen reagiert. Dabei ist zu vermuten, daß der Einfluß der Tagesperiodik auf die Verlagerung der Chromatophoren vor allem in

dem empfindlichen Zwischenbereich zwischen 6.000 Lux und 15.000 Lux, in dem das WEBER'sche Gesetz annähernd Gültigkeit besitzt, auftritt.

Als Versuchsmaterial dienten Thalli, die, wie oben beschrieben, an einem Nordost-Fenster angezogen wurden. Wie in den zuvor diskutierten Versuchen wurde als konstante Schwachlicht-Beleuchtungsstärke 1.000 Lux, als Starklicht-Beleuchtungsstärke 8.000 Lux gewählt. Auch die Dauer eines Cyclus (jeweils ein Starklicht-Lauf und ein Schwachlicht-Lauf) wurde auf 2 x 4 Stunden festgesetzt.

Die Abb. 57 zeigt in einem Reaktions-Zeit-Diagramm die Kinetik der Transmissionsänderung über mehrere Tage.

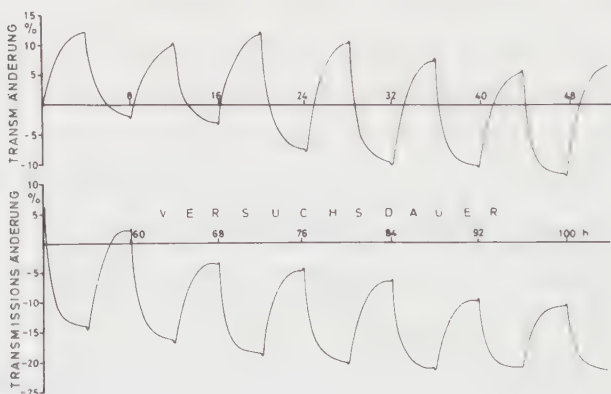


Abb. 57: Zeitlicher Verlauf der Transmissionsänderung im Starklicht-/Schwachlicht-Wechsel von 8.000 bzw. 1.000 Lux Beleuchtungsstärke. Infolge Pigmentsynthese ist eine stetige Drift-Komponente von 0,25 % ΔT /Std. überlagert.

Den Reaktionen ist eine zusätzliche Driftkomponente, eine Transmissionsabnahme von der Größe $0,25\% \Delta T/\text{Std.}$ überlagert. Die Ursache hierfür ist vermutlich in einer Pigmentsynthese zu sehen. Doch nach 100 Stunden ist die Driftrate gegenüber der Signalgröße zu vernachlässigen.

Die Abb. 57 läßt nicht erkennen, ob der Amplitudenwechsel durch eine circadiane Rhythmik beeinflußt ist. Erst die Darstellung der Reaktionsamplituden selbst (Abb. 58) läßt die Rhythmik deutlich hervortreten.

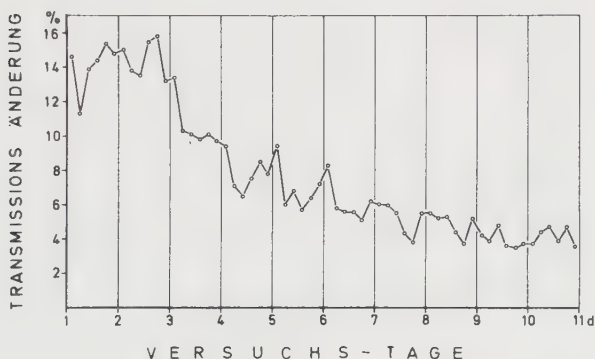


Abb. 58: Amplituden-Darstellung der Transmissions-Änderung aus Abb. 57. Die Graphik stellt die Starklicht- und die Schwachlicht-Maximalamplitude in einem Diagramm dar. Circadiane periodische Änderungen sind erkennbar.

Da aber, streng genommen, jeweils nur die Amplituden der Starklicht- und der Schwachlicht-Bewegung untereinander vergleichbar sind, wurden diese in Abb. 59a und Abb. 59b einzeln aufgetragen. Man erkennt periodisch wieder-

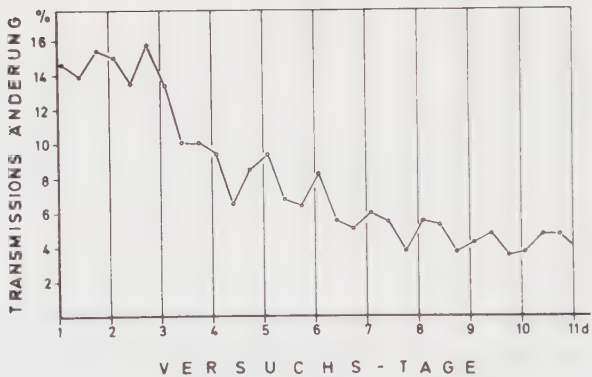
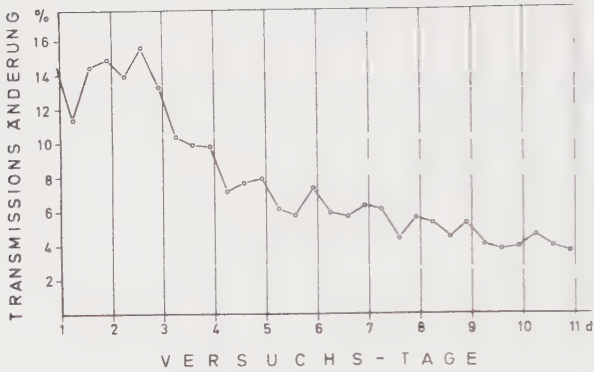


Abb. 59 a/b: Amplituden-Darstellung der Transmissions-änderungen aus Abb. 58, jedoch getrennt nach Starklicht-Reaktion (Abb. 59a) und Schwachlicht-Reaktion (Abb. 59b) aufgetragen. Rhythmische circadiane Amplituden-Änderungen werden in dieser Darstellungsweise deutlich sichtbar.

kehrende Maxima und Minima. Dabei liegt das Ausmaß der circadianen Schwankungen der Reaktionsamplitude bei etwa $\pm 18\%$ der mittleren Amplitude und ändert sich während des Versuchsablaufes nur wenig.

Da das Belichtungsprogramm einem vierstündigen Wechsel unterliegt, sind die Maxima und Minima der Einzelreaktionen zeitlich nicht genau festzulegen. Hierzu wäre eine dichtere Folge von Meßpunkten erforderlich. Dennoch gestattet die Berücksichtigung von 10 Versuchstagen eine hinreichend genaue Bestimmung der Periodenlänge der endogenen Rhythmik. Dabei stehen zwei Möglichkeiten offen. Einerseits können den vorliegenden drei Darstellungen eine genügende Anzahl von Einzelwerten entnommen werden, um daraus ein Mittel zu bilden. Nach dieser Methode (I) ergibt sich eine freilaufende Periodik von 26,8 Stunden für die Schwachlicht-Bewegung und 27,0 Stunden für die Starklicht-Bewegung mit Standard-Abweichungen von jeweils 2,39 bzw. 3,65.

Die zweite Methode liegt darin, den zeitlichen Abstand von jeweils zwei Maxima oder Minima zu Beginn und Ende des gesamten Versuches festzulegen und mit der Anzahl der dazwischen liegenden Maxima (Minima) zu korrelieren. Das Mittel der auf diese Weise bestimmten freilaufenden Periodik läßt sich hier mit 26,3 Stunden für die Schwachlichtbewegung und 27,1 Stunden für die Starklicht-Bewegung mit Standardabweichungen von 0,27 bzw. 1,02 angeben.

Für die Betrachtungen zur Tagesperiodik lassen sich

ebenfalls noch die Abb. 37 und Abb. 38 aus dem Abschnitt 1.23 (Versuche zum Langzeitverhalten) heranziehen, da die Versuchsbedingungen mit denen dieses Abschnitts identisch sind. Berechnet man die freilaufende Periodik nach den oben geschilderten Methoden so erhält man die in Tabelle 3 dargestellten Werte:

	Me- thode	Perioden- länge	Standard- Abweichung
Schwach- licht-	I	28,9	4,6
Bewegung	II	26,8	1,57
Stark- licht	I	30,2	2,9
Bewegung	II	30,4	1,55

Tab. 3: Gegenüberstellung der Periodendauer und der Standard-Abweichung der Schwachlicht- und der Starklicht-Bewegung aus Abb. 37b und Abb. 37a in Abschnitt 1.23. Methode I: der zeitliche Abstand mehrerer Reaktions-Maxima und Minima wird bestimmt und gemittelt. Methode II: der zeitliche Abstand von je zwei Maxima oder Minima zu Beginn und zu Ende des Versuches wird bestimmt und durch die um 1 erhöhte Anzahl der dazwischenliegenden Maxima oder Minima dividiert. Die Standard-Abweichung durch Anwendung der Methode II ist kleiner als nach Methode I.

Ein weiterer Weg, den Verlauf der Einzelreaktion der Chromatophorenbewegung zu charakterisieren, ist, wie schon in früheren Abschnitten beschrieben, die Bestimmung

der Reaktionsgeschwindigkeit. Auch in dieser Versuchsserie wurde die Steilheit der Amplitudenänderung bei 30% der Gesamtamplitude bestimmt und über die Versuchsdauer aufgetragen. Die Abb. 60a gibt die Steilheit der Starklichtamplitude, die Abb. 60b die der Schwachlichtamplitude wieder. Vergleicht man die Steilheitswerte beider Reaktionen, so wird zunächst für den ersten Teil des Versuches der in Abb. 38a und Abb. 38b ausführlich diskutierte Befund erhärtet: Die Steilheit der Schwachlichtamplitude ist auch hier wesentlich größer als die der Starklicht-Amplitude. Das Verhältnis liegt in der Anfangsphase dieser Versuche bei einem mittleren Wert von $3,2 : 1$ mit einem maximalen Wert von sogar $4,3 : 1$. Bei längerer Versuchsdauer ändert sich dieses Verhältnis jedoch sehr rasch, und nach etwa sechs Versuchstagen ist die Schwachlicht-Bewegungsgeschwindigkeit auf nahezu gleiche Werte wie die Starklicht-Kinetik abgefallen. Die Starklicht-Bewegungsgeschwindigkeit weist dagegen einen im Mittel konstanten Wert über die Dauer des gesamten Versuches auf. Die oben aufgrund der Abb. 38a und Abb. 38b getroffene Feststellung, daß die Starklicht-Steilheit stets geringere Werte als die Schwachlicht-Kinetik aufweist, trifft nach diesen Versuchen und den Ergebnissen in Abb. 60a und Abb. 60b nicht allgemein zu, sondern sie gilt offenbar nur für die Anfangsphase. Bei längerer Versuchsdauer kann die Starklicht-Kinetik bisweilen sogar etwas steiler wie die Schwachlicht-Kinetik verlaufen. Betrachtet man die Abb. 60a und die Abb. 60b (die Aussage

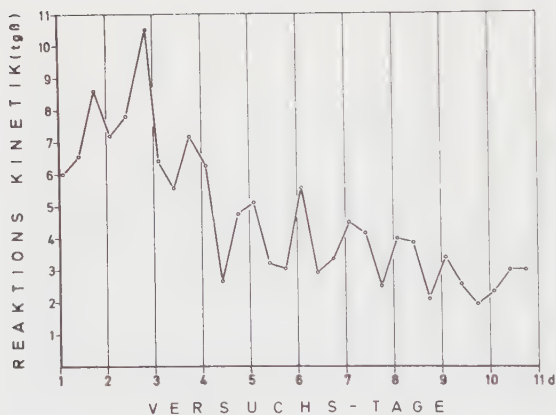
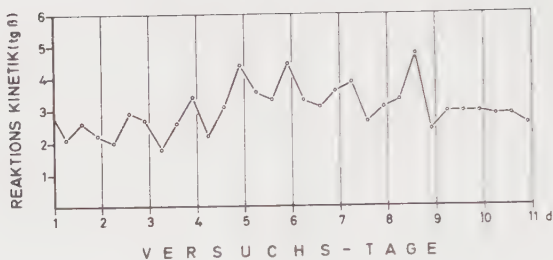


Abb. 60 a/b: Zeitlicher Verlauf der Reaktions-Kinetiken für die Starklicht-Bewegung (Abb. 60a) und die Schwachlicht-Bewegung (Abb. 60b). Die Steilheitswerte wurden bei 30% der jeweiligen Amplitude der Transmissionsänderung bestimmt.

gilt ebenfalls für die Abb. 38a und die Abb. 38b) unter dem Gesichtspunkt des Auftretens einer Tagesperiodik, so tritt die Rhythmik sogar noch deutlicher zutage als in den Amplituden-Diagrammen. Eine Abschätzung zeigt, daß diese Oszillationen Werte von annähernd $\pm 40\%$ der der mittleren Amplitude erreichen.

Die Bestimmung der Periodendauer dieser endogenen Rhythmik führt zu der Darstellung in Tabelle 4. Die berechneten Werte aus Abb. 38a und Abb. 38b sind zum Vergleich eingetragen.

		Me- thode	Perioden- länge	Standard- Abweichung
Schwach-	Abb.	I	27,6	1,1
	60b	II	27,4	0,62
licht- Bewegung	Abb.	I	30,2	4,1
	38b	II	27,8	1,1
Stark-	Abb.	I	27,6	3,2
	60a	II	27,3	0,67
licht- Bewegung	Abb.	I	29,1	4,2
	38a	II	30,3	1,22

Tab. 4: Gegenüberstellung der Periodendauer und der Standard-Abweichung der Schwachlicht- und der Starklicht-Bewegungskinetik aus den Abb. 60 und den Abb. 38.

Zusammenfassend läßt sich die freilaufende Periodenlänge der Chromatophorenbewegung bei *Dictyota* aus den vorliegenden Daten mit 28,6 Stunden festlegen, wobei als Extrema Werte zwischen 26,8 und 30,3 Stunden ermittelt wurden. Damit ist erwiesen, daß das Phänomen der "frequency demultiplication" nicht beteiligt sein kann, weil sich daraus für die geschilderten Versuche nur Periodendauern von entweder 24 Stunden oder 32 Stunden herleiten lassen. Näheres hierzu im folgenden Abschnitt.

3.2 Bewegungsablauf der Chromatophorenverlagerung in unter Dauerlicht kultiviertem Versuchsmaterial.

Es ist erwiesen, daß tagesrhythmisches Verhalten in biologischem Material zunächst eines Anstoßes durch einen äußeren Zeitgeber bedarf. Dagegen verliert sich eine vorhandene Rhythmik nach einiger Zeit. Sie klingt aus, wenn der synchronisierende Außenreiz nicht mehr gegeben wird (BÜNNING 1963). Ebenso ist bekannt, daß die Rhythmik nicht spontan ist, d.h. Objekte, die unter völlig konstanten Außenbedingungen aufgewachsen sind, zeigen kein periodisches Verhalten.

Ziel einer weiteren Untersuchung zum tagesperiodischen Verhalten der Chromatophorenbewegung bei *Dictyota* war festzustellen, ob Objekte aus unter Dauerlicht kultiviertem Versuchsmaterial Anzeichen von periodischen Schwankungen zeigen, die in etwa mit einem 24-Stunden-Rhythmus vergleichbar wären. Sollten Hinweise hierfür

gefunden werden, so müßte das Versuchsprogramm auf mögliche, eine Tagesperiodik induzierende Faktoren untersucht werden.

Für das Wachstum mancher höherer Pflanzen ist ein periodischer Licht-Dunkel-Wechsel eine Notwendigkeit. *Dictyota* dagegen gehört zu der Gruppe der Pflanzen, die ein Ausbleiben eines solchen Licht-Dunkel-Wechsels tolerieren. Thalli, die im Dauerlicht angezogen werden, unterscheiden sich äußerlich in keiner Weise von den Licht-Dunkel-Kulturen.

Als Versuchsmaterial dienten Thalli, die zunächst, wie beschrieben, an einem Nordost-Fenster angezogen wurden. Drei Wochen vor Versuchsbeginn wurde dieses Material in eine Kulturkammer überführt und einer konstanten Belichtung von 1.000 Lux bei einer konstanten Temperatur von 15°C ausgesetzt. Die Präparation des Untersuchungsobjektes für den Versuch wurde ebenfalls unter 15°C durchgeführt, so daß die mögliche Induktion einer Rhythmik durch einen Temperatur-Schock vermieden wurde.

Als konstante Schwachlicht-Beleuchtungsstärke wurde, genau wie in den zuvor beschriebenen Versuchen, 1.000 Lux und als Starklicht-Beleuchtungsstärke 8.000 Lux gewählt. Auch die Dauer eines Cyclus (jeweils ein Starklicht- und ein Schwachlicht-Lauf) wurde auf 2 x 4 Stunden festgesetzt.

Abbildung 61a gibt die Amplitudenauswertung der Stark-

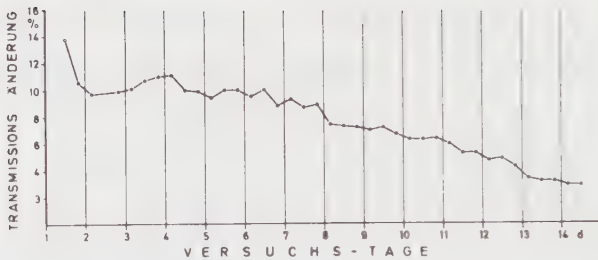
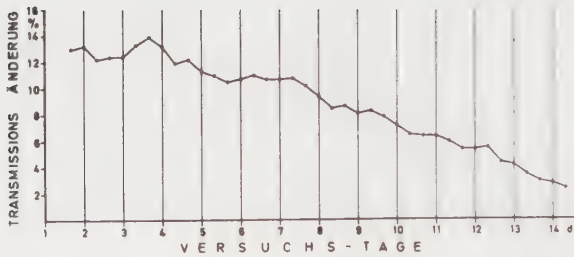


Abb. 61 a/b: Amplituden-Darstellung der Transmissions-
Änderung einer Dauerlicht-Kultur. Abb. 61a: Änderung
der Transmission im Starklicht. Abb. 61b: Änderung der
Transmission im Schwachlicht.

licht-Reaktion und Abb. 61b die Amplituden der Schwachlicht-Reaktion wieder. Auch in diesem Versuch zeigt die Amplitude, ähnlich wie in den bereits besprochenen Abb. 37a und Abb. 37b, einen allmählichen Rückgang von etwa 12% ΔT auf 3% ΔT nach 14 Tagen.

In diesem Zusammenhang muß darauf verwiesen werden, daß diese Amplitudenabnahme während der ersten Versuchsphase sehr häufig zu beobachten ist. Daß jedoch auch Ausnahmen möglich sind, zeigen die Abb. 63 und Abb. 64. Die Frage nach der Ursache der Amplitudenabnahme wird in dem Abschnitt IV.4.1 noch ausführlicher diskutiert werden.

Allerdings geht aus dieser Versuchsserie eindeutig hervor, daß, abgesehen von einigen geringfügigen Unregelmäßigkeiten, die Kurve im wesentlichen geradlinig und ohne erkennbare Anzeichen einer Rhythmik verläuft.

Den in diesem Abschnitt beschriebenen Ergebnissen kommt noch eine weitere wichtige Bedeutung zu. Nach PITTENDRIGH (1961) und ROBERTS (1962) ist es möglich, eine endogene Rhythmik auch durch kürzere Licht-Dunkel-Wechsel als durch einen 12 : 12 stündigen zu induzieren. So kann in einigen Fällen sogar ein 2 : 2 stündiger oder 3 : 3 stündiger Licht-Dunkel-Wechsel ausreichend sein, die Rhythmik anzustoßen. Mit diesem als "frequency demultiplication" bezeichneten Phänomen mußte auch in den hier beschriebenen Versuchen, die einem 4 : 4 stündigen Wechsel unterliegen, gerechnet werden. Denn es kann für Dictyota wie auch für eine Reihe anderer Objekte nicht

erwartet werden, daß während jeder Phase eines Tages die gleiche Empfindlichkeit gegenüber einem äußeren Anstoß vorliegt. Die Abb. 61a und die Abb. 61b jedoch ergeben keinerlei Hinweise dafür, daß in Dictyota-Dauerlicht-Kulturen eine freilaufende endogene Rhythmik in der Chromatophorenbewegung vorhanden ist, noch ist zu erkennen, daß eine solche durch den vierstündigen Lichtwechsel induziert wird. Dabei mag entscheidend sein, daß dieser Wechsel nur im Schwachlicht/Starklicht-Bereich mit einem Intensitäts-Verhältnis von 1 : 8 abläuft und somit für eine Induktion nicht ausreichend ist. Ob höhere Intensitäts-Verhältnisse induzierend wirken können, muß in weiteren Versuchen geklärt werden.

3.3 Induktion der circadianen Rhythmik bei Dictyota.

Nicht nur die Betrachtung der Periodenlänge der durch äußere Zeitgeber unbeeinflussten Oszillation gibt entsprechende Hinweise für eine endogene Rhythmik; vielmehr kann auch das Ausklingen einer solchen Oszillation als weiteres wichtiges Kriterium hierfür angesehen werden. Dazu muß noch einmal auf die Versuche in Abschnitt IV.1.23, sowie auf die Abb. 37 und 38 zurückverwiesen werden, in denen die periodischen Schwankungen sowohl in der Amplitude wie auch in der Kinetik nach etwa 20 Tagen aufhören. Diese Angabe wird auch noch durch weitere Versuche gestützt (s.a. Abb. 62a und Abb. 62b); indes gilt dieses nur für Objekte, die bereits in der Anzucht einem Licht-Dunkel-Wechsel unterworfen waren. Dagegen ist die Abklingzeit kurzzeitig induzierter Rhythmen, wie weiter unten gezeigt wird, kürzer.

Die Chromatophorenbewegung bei Dictyota ist unter bestimmten Anzucht-Bedingungen einer circadianen Rhythmik nach Amplitude und Geschwindigkeit unterworfen. Es sollte somit möglich sein, solche Versuchsobjekte, die infolge Fehlens von steuernden externen Zeitgebern keine Rhythmik mehr aufweisen, im Versuch zur Wiederaufnahme periodischer Schwingungen zu veranlassen. Hierbei stellt sich die Frage, ob auch kurzzeitig wiederholte Änderungen der Umgebungsbedingungen induzierend wirken.

3.31 Induktion der circadianen Rhythmik durch Licht-Dunkel-Wechsel.

Neben der Abklingzeit induzierter Rhythmen soll in diesem Abschnitt untersucht werden, ob die charakteristischen Werte der endogenen Rhythmik, insbesondere die Periodendauer auch nach einer kurzzeitigen Induktion erhalten bleiben. Dazu wurden zunächst Thalli aus der Wechsellichtkultur (Nordostfenster) untersucht.

Betrachtet man die Amplitudendarstellungen, die sich aus einem jeweils 4-stündigen Schwachlicht-/Starklicht-Wechsel von 1.000 Lux bzw. 8.000 Lux ergeben (die Starklichtreaktion ist in Abb. 62a und die Schwachlicht-Reaktion in Abb. 62b dargestellt), so zeigt sich für die erste Versuchsphase der schon bekannte Verlauf: eine Abnahme der Amplitude während der ersten Versuchstage von max. 7% ΔT auf einen konstanten mittleren Wert von etwa 2,5% ΔT ist von einer Oszillation mit einer Periodendauer von 29,0 Stunden überlagert. Diese Rhythmik ist nach 18 Tagen ausgeklungen. Beginnend mit dem 24. Versuchstag wurde das Objekt in Abständen von 12 Stunden drei 12-stündigen Dunkelphasen ausgesetzt. Zwischen den Dunkelphasen und nach Beendigung der dritten Dunkelphase wurde das vorherige Schwachlicht-/Starklicht-Programm fortgesetzt.

Sieht man von der beträchtlich vergrößerten Reaktionsamplitude ab (ein Phänomen, welches später noch ausführlicher zu besprechen ist), so ist ein Wiederauftre-

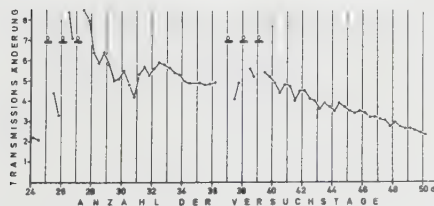
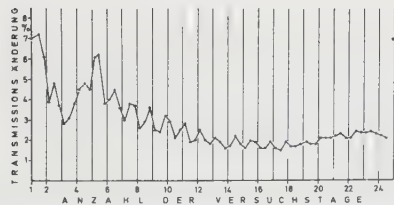
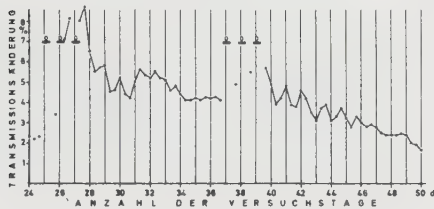
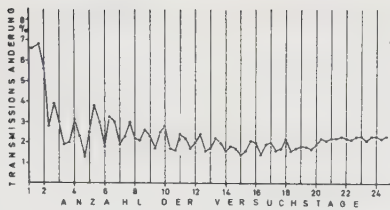


Abb. 62 a/b: Zweimalige Induktion von circadianen rhythmischen Amplituden-Schwankungen durch Dunkelphasen. Die Induktion erfolgte an unter tagesperiodischen Lichtbedingungen kultiviertem Versuchsmaterial, nachdem die endogene Rhythmik ausgeklungen war. Abb. 62a: Starklicht-Reaktion. Abb. 62b: Schwachlicht-Reaktion. Nach der Dunkelphase ist eine Zunahme der Transmissionsänderung zu beobachten.

ten der Periodizität im Bewegungsverhalten deutlich erkennbar, wenn auch nicht so ausgeprägt, wie zu Beginn des Versuches. Zum anderen ist die Oszillation am 34. Versuchstag, also bereits nach sieben Tagen, abgeklungen. Die Periodendauer berechnet sich zu 30,7 Stunden.

Am Abend des 36. Versuchstages wurde das Objekt erneut für 12 Stunden verdunkelt, gefolgt von einem 12-stündigen Schwachlicht-/Starklicht-Programm. Dieser Cyclus wurde am 37. und 38. Versuchstag wiederholt, und vom 39. Versuchstag an wurde das Untersuchungsmaterial einem stetigen Starklicht-/Schwachlicht-Wechsel von 8.000 Lux bzw. 1.000 Lux ausgesetzt.

Noch deutlicher als nach Beendigung der ersten Induktionsphase ist hier das Wiederauftreten der Oszillation festzustellen. Die Amplitude ist anfänglich geringfügig größer als vor Beginn der Dunkelinduktion und läßt vom 47. Versuchstag an (9 Tage nach Beendigung des Dunkelprogramms) keine Oszillation mehr erkennen. Die Periodenlänge nach der zweiten Induktionsphase berechnet sich zu 30,6 Stunden.

Der Vergleich der Abklingzeiten an einem Objekt, welches einerseits langfristig und andererseits kurzfristig den die endogene Rhythmik induzierenden Licht-Dunkel-Phasen ausgesetzt war, läßt darauf schließen, daß der Induktionsprozeß kein "Alles-Oder-Nichts"-Vorgang ist. Über welche Abhängigkeiten (linear, logarithmisch) die Abklingzeit mit der Induktionsdauer gekoppelt ist, muß noch geklärt

werden. Ob möglicherweise die Induktionsdauer auch die Periodenlänge beeinflusst, ist wegen der geringen Anzahl der hierzu durchgeführten Versuche noch nicht sicher zu entscheiden. Es erstaunt jedoch, daß die Periodenlänge der kurzzeit-induzierten Rhythmik mit fast übereinstimmend 30,6 Stunden (1. Induktionsphase) und 30,7 Stunden (2. Induktionscyclus) an der oberen Grenze aller bisher bestimmten Periodenlängen liegt, während die durch die Kulturbedingungen langfristig induzierte Rhythmik mit 29,0 Stunden bis auf 0,4 Stunden an das Mittel der bisher errechneten Periodenlängen heranreicht.

Des weiteren demonstriert dieser Versuch erneut die Vorteile dieses Meßverfahrens, durch das Untersuchungen an derselben Objektstelle über eine Gesamtdauer von 50 Tagen und mehr durchgeführt werden können.

In einem weiteren, ähnlichen Versuch wurde ein Objekt aus der 15°C-Dauerlicht-Kultur untersucht, um zu klären, ob auch hier ein dreifacher Hell-Dunkel-Wechsel für die Induktion einer Rhythmik ausreichend ist. Wie zuvor wurde die Untersuchung unter einem Starklicht-/Schwachlicht-Wechsel von 8.000 Lux und 1.000 Lux durchgeführt.

In der Amplitudendarstellung der Gesamt-Reaktion (Abb. 63) und der Einzelreaktionen (Abb. 64a und Abb. 64b) fällt zunächst die relativ konstante Amplitudenhöhe während der Versuchsdauer auf. Es ist zu vermuten, daß die Ursache für die besonders gute Konditionierung des Versuchsmaterials in den Kulturbedingungen (Dauerlicht)

liegt. Die Dunkel-Induktionsphasen wurden am 21., 22. und 23. Versuchstag wieder für 12 Stunden Dauer in einem Abstand von 12 Stunden gegeben. Es zeigt sich, daß die Amplituden nur geringfügig (12%) höher liegen, als vor Beginn der Dunkelphase. Die Gesamt-Reaktion weist einen unregelmäßigen Amplitudenverlauf auf, der sich bei der Betrachtung der Einzelreaktionen als rhythmische circadiane Änderung äußert. Die Periodendauer der induzierten Starklicht-Reaktion läßt sich mit 30,3 Stunden, die der Schwachlicht-Reaktion mit 30,5 Stunden bestimmen.

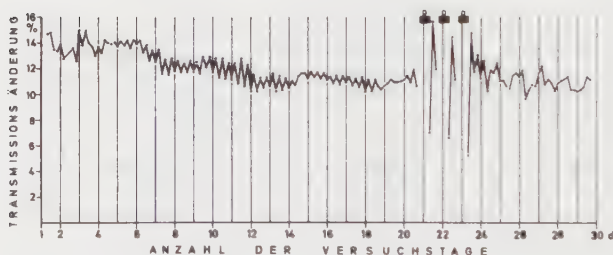


Abb. 63: Induktion von circadianen rhythmischen Amplituden-Schwankungen der Transmission durch Dunkelphasen an unter Dauerlicht kultivierten Versuchsobjekten. Die Schwachlicht- und die Starklicht-Amplituden sind in ein Diagramm eingetragen und verschleiern die schwach erkennbare Rhythmik nach der Induktionsphase.

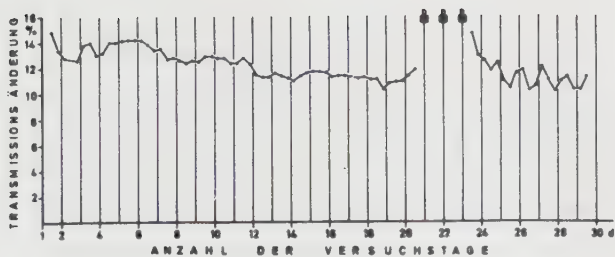
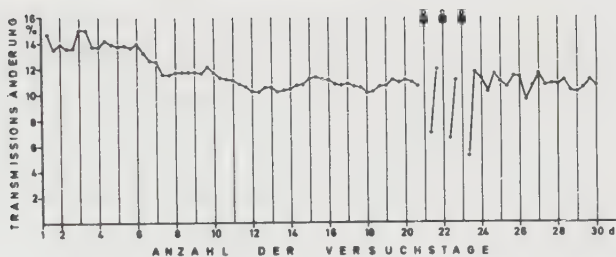


Abb. 64 a/b: Wie Abb. 63, jedoch nach Starklicht-Amplitude (Abb. 64a) und Schwachlicht-Amplitude (Abb. 64b) getrennt aufgetragen. Die induzierte Rhythmik mit Beginn des 24. Versuchstages wird deutlich erkennbar.

3.32 Induktion der circadianen Rhythmik durch einen Temperatursprung.

Nach den Ergebnissen der in den vorigen Abschnitten diskutierten Versuche ergibt sich die Frage, ob auch andere Reize als Licht-Dunkel-Wechsel bei *Dictyota* eine Rhythmik auslösen können. In den Versuchen von WASSERMANN (1959) an Bohnen (*Phaseolus multiflorus*) ließ sich z.B. die Blattbewegung durch eine Temperaturerniedrigung auslösen. Zu vergleichbaren Ergebnissen kam RUDDAT (1960) bei der Beobachtung der Sporulationsrhythmik der Alge *Cedogonium* nach einem Temperaturwechsel unter konstanten Licht-Bedingungen.

Wenn auch die Versuche zur Temperatur-Induktion einer Rhythmik bei der Chromatophoren-Verlagerung noch nicht in dem Maße durchgeführt werden konnten wie die Versuche zur Licht-Induktion, so gibt das im folgenden beschriebene Experiment zumindest einen Hinweis, daß bei *Dictyota* eine endogene Rhythmik auch durch Temperatur-Wechsel ausgelöst werden kann.

Die Untersuchungen über das Bewegungsverhalten von Dauerlicht-Kulturen (Abschnitt IV.3.2) führte zu dem Ergebnis, daß in Kulturen, die während der Anzucht einem Hell-Dunkel-Rhythmus ausgesetzt waren, die Rhythmik nach etwa 20 Tagen ausklingt, wenn die Kulturen unter konstante Licht- und Temperaturbedingungen gebracht werden (s.a. Abb. 37 und Abb. 62). Auch die anschließende Untersuchung in einem konstanten, 2 x 4-stündigen Starklicht-/Schwach-

licht-Cyclus von z.B. 8.000/1.000 Lux löst keine Rhythmik aus (Abb. 61).

Hiervon abweichende Verhältnisse ergeben sich allerdings, wenn Tageslichtkulturen vom Nordost-Fenster unter einer konstanten Bestrahlungsstärke von 1.000 Lux bei einer Kammertemperatur von 20°C weiterkultiviert werden und nach vier Wochen unter dem Photometer bei 15°C Experimental-Temperatur untersucht werden. Der einmalige Temperatursprung von 20°C auf 15°C erwies sich, wie die Abb. 65a für die Starklicht-Reaktion (8.000 Lux) und Abb. 65b für die Schwachlicht-Reaktion (1.000 Lux) zeigen, als ausreichend, eine endogene Bewegungsrhythmik auszulösen. Dabei beträgt die Periodendauer 31,2 Stunden für die Starklicht-Bewegung und 29 Stunden für die Schwachlicht-Bewegung - im Mittel also wieder etwa 30 Stunden. Die Oszillation ist nach 9 Tagen ausgeklungen.

Analog den Experimenten zur Licht-Induktion wurde versucht, die endogene Rhythmik in Objekten aus der 15°C Dauerlicht-Kultur dadurch auszulösen, daß diese einer Temperatur von 15°C bzw. 20°C in 12-stündigem Wechsel ausgesetzt wurden. diese Versuche führten bisher zu keinen Ergebnissen. Der Grund für das Ausbleiben der Oszillation mag darin liegen, daß der dreimalige Temperatursprung von 5°C bei jeweils 12-stündiger Dauer unterhalb der Null-Schwelle liegt, und diese wiederum könnte von der Vorgeschichte abhängig sein. - An weiteren Versuchen zur Klärung dieser Fragen wird gearbeitet.

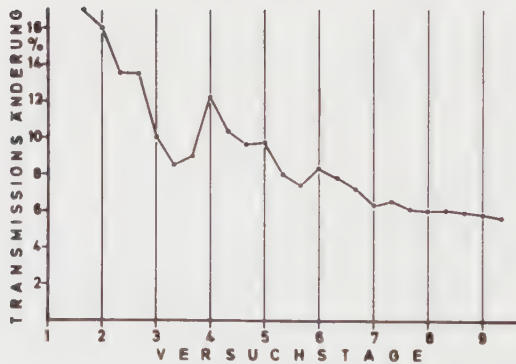
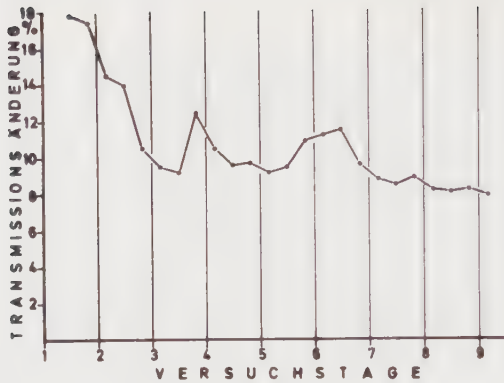


Abb. 65 a/b: Induktion der circadianen Rhythmik durch einen Temperatursprung von 5°C . Unter 20°C und Dauerlicht kultiviertes Versuchsmaterial wurde bei 15°C untersucht.
Abb. 65a: Auswertung der Starklicht-Amplitude (8.000 Lux)
Abb. 65b: Auswertung der Schwachlicht-Amplitude (1000 Lux)

4. Besonderheiten im Reaktionsablauf der Chromatophorenbewegung bei Dictyota.

4.1 Beeinflussung der Chromatophorenbewegung durch Dunkelphasen.

In dem Abschnitt IV.3.31 (Rhythmik-Induktion) wurde darauf hingewiesen, daß die Reaktionsamplitude nach Beendigung der Dunkelphase größere Werte als vor Beginn des Induktions-Cyclus aufweist (Abb. 62). Dieses gilt für Kulturen, die unter tagesperiodisch wechselnden Lichtbedingungen (Nordost-Fenster) aufgewachsen sind. Betrachtet man dagegen die Abb. 63 und die Abb. 64 im gleichen Abschnitt (Rhythmik-Induktion bei Dauerlicht-Kulturen), so stellt sich unter sonst gleichen Versuchsbedingungen eine nur geringfügig vergrößerte Reaktionsamplitude ein.

Aus einer weiteren Versuchsserie eigens zu dieser Fragestellung ist in Abb. 66 die Amplitude der Transmissionsänderung der Starklichtbewegung und der Schwachlichtbewegung eines unter tagesperiodisch wechselnden Lichtbedingungen angezogenen Objektes dargestellt. Die Schwachlicht-Beleuchtungsstärke betrug 1.000 Lux und die Starklicht-Intensität 8.000 Lux. Es interessierte hierbei insbesondere der Verlauf der Transmissionsänderung im Objekt, wenn längere Zeit hindurch das normale Starklicht-/Schwachlicht-Programm nach jeweils 12 Stunden durch eine Dunkelphase von 12-stündiger Dauer unterbrochen wird.

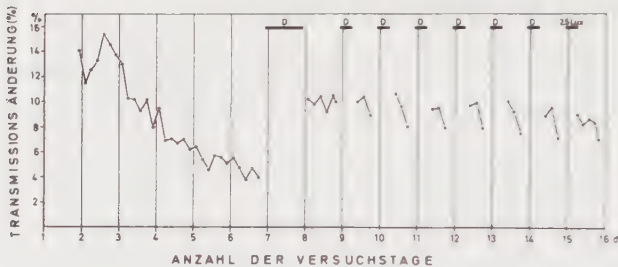


Abb. 66: Amplituden-Zunahme der Transmissionsänderung durch Dunkelheit und sehr geringe Beleuchtungsstärken in einer unter tagesperiodisch wechselnden Lichtbedingungen angezogenen Kultur.

Der erste Teil der Darstellung zeigt den für unter tagesperiodisch wechselnden Lichtbedingungen angezogene Versuchsobjekte bekannten Abfall der Reaktionsamplitude. Bereits nach der ersten Dunkelzeit tritt eine Zunahme der Transmissionsänderung bis fast auf den Ausgangswert ein. Dieser Wert bleibt während der Versuchszeit etwa erhalten, wenn auch nach jeder Dunkelphase die auf den ersten Reaktionswert folgenden Messungen die Tendenz einer Verringerung der Transmissionsänderung zeigen.

Zusammenfassend ergibt sich somit das folgende Bild: Kulturen, die unter künstlichem Dauerlicht angezogen wurden, weisen in einer über längere Zeit laufenden Schwachlicht-/Starklicht-Versuchsserie unter den vorgenannten Bedingungen eine nur geringfügige Amplitudenabnahme der Transmissionsänderung auf (Abb. 63 und Abb. 64).

Eine während des Versuchsablaufes eingefügte Dunkelphase hat nur eine schwache Erhöhung der Amplitude zur Folge.

Unter tagesperiodisch wechselnden Lichtbedingungen angezogene Kulturen zeigen bald nach Versuchsbeginn eine Amplitudenabnahme (Abb. 66). Eine Dunkelphase dagegen erhöht das Signal bis fast auf den ursprünglichen Wert. Durch periodisch gegebene neue Dunkelphasen kann dieser Wert der Transmissionsänderung auf fast gleichem Niveau gehalten werden. Ein Ausbleiben der Dunkelphase jedoch resultiert in einer erneuten Abnahme der Transmissionsänderung.

Die Ursache hierfür ist möglicherweise im Zusammenhang mit dem im Abschnitt IV.1.21 diskutierten "Reaktionsmuster" zu sehen. Unter den verwendeten Beleuchtungsstärken von 1.000/8.000 Lux sind der Kern und die angelagerten Plastiden (s. Abb. 31 und Abb. 32) im Zentrum der Speicherzellen angeordnet. Bei Dunkelheit hingegen verringert sich das eingenommene Aggregat-Volumen: die Plastiden rücken näher an den Kern heran. Gleichzeitig verlagert sich dieser an den Rand, oft auch in eine Ecke der Zelle. Es wird somit der vermutlich chemotaktische Ausstrahlungsbereich der Speicher-Zellkerne reduziert, und es nimmt eine größere Anzahl von Corticalzellen an der Schwachlicht-/Starklicht-Reaktion teil. Dagegen findet im Licht, d.h. während des Ablaufs der Schwachlicht- und Starklicht-Reaktionen eine Rückwanderung des Kernes der Speicherzellen in die Zellmitte statt, verbunden mit einer Amplitudenabnahme der Transmissionsänderung.

4.2 Besonderheiten im Bewegungsablauf der Starklicht-Reaktion.

Wie oben beschrieben, ergeben definierte Beleuchtungsstärken entsprechende Verteilungen der Plastiden in der Zelle. Dabei ist, wie Abb. 40 und Abb. 44 zeigen, jeder Beleuchtungsstärke ein bestimmtes, flach verlaufendes Reaktionsniveau zuzuordnen.

Bisweilen treten jedoch Abweichungen hiervon auf. Die Abb. 67 demonstriert einen solchen Fall, der bei einem Schwachlicht-/Starklicht-Wechsel von 1.000/8.000/1.000 Lux erreicht wurde.

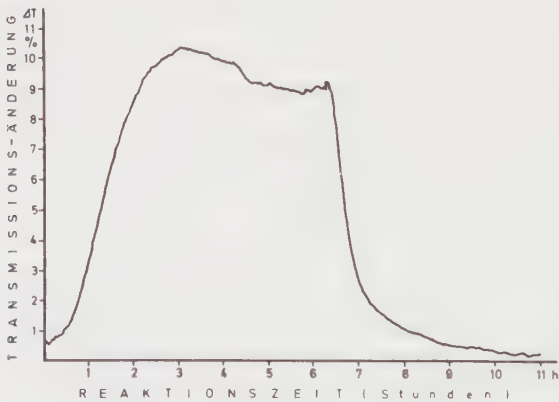


Abb. 67: Rücklauf der Starklicht-Reaktionsamplitude durch Objekt-Adaptation.

Bemerkenswert ist, daß der Amplituden-Rücklauf nicht auch eine Versetzung der anschließenden Schwachlicht-

Bewegung zur Folge hat: der Ausgangspunkt des Beginns der Starklichtbewegung wird in etwa wieder erreicht. Diese Beobachtung schließt die Verantwortlichkeit einer während der Starklichtphase auftretende Pigmentsynthese aus. Zum anderen macht die geringe Dauer des Vorgangs eine solche unwahrscheinlich. Vielmehr könnte eine Adaptation des Versuchsobjektes die Ursache für die Transmissionszunahme sein. Dafür spricht weiterhin, daß geringe Schwachlicht-/Starklicht-Änderungen im Bereich von 1.000 Lux bis 4.000 Lux zunächst mit einer entsprechenden Reaktion beantwortet werden; nach mehreren Stunden jedoch nehmen die Chromatophoren dann wieder ihre extreme Schwachlicht-Lage ein.

V. Diskussion

In seiner im Jahre 1934 erschienen Arbeit beschreibt VOERKEL die Methode der direkten Auszählung der in Rand- und Flächenstellung befindlichen Chromatophoren, um damit eine Meßgröße für die Verlagerung zu finden. Zwanzig Jahre später setzte BIEHL (1954) die indirekte Methode hierfür ein, und es erhob sich Anfang der 60er Jahre eine rege Diskussion darüber, welchem Verfahren der Vorzug zu geben sei. Durch direkte Beobachtungen kamen vor allem HAUPT (1959, 1962), sowie ZURZYCKI (1961) aufgrund zusätzlicher rechnerischer Abschätzungen zu der Auffassung, daß die direkte Methode der indirekten an Genauigkeit, allerdings mit dem Nachteil eines größeren zeitlichen Aufwandes, überlegen sei. Wenn allerdings solche Untersuchungen an Objekten mit sehr dünnen Thalli (1-, 2- oder dreischichtig) unter Meßlicht konstanter Qualität durchgeführt werden, zudem ein größerer Zellbereich (20 bis 100 Zellen) in die Messung einbezogen wird, und man schließlich gar noch die Messung der Transmissionsänderung mit der gleichzeitigen Beobachtung der Verlagerung der Chomatophoren korrelieren kann, so ist die gemessene Transmissionsänderung, wie die Untersuchungen dieser Arbeit ergeben, sehr wohl als zuverlässige Meßgröße der Verlagerung anzusehen.

Dabei liegt nach unseren Beobachtungen an verschiedenen Objekten das Problem der Bestimmung der jeweils in Rand- und Flächenstellung befindlichen Plastiden weniger in

der Auszählung selbst, als vielmehr in der Bewertung des flächenmäßigen Anteiles derjenigen Plastiden, die sich im Übergang von der Flächenstellung in die Randstellung befinden. Die prozentuale Abschätzung des bereits auf die andere Wand übergegangenen Teiles des einzelnen Plastiden bringt insbesondere bei solchen Objekten, die nur wenige Plastiden pro Zelle aufweisen, einen sehr großen subjektiven Fehler mit sich (HAUPT, 1966), so daß erst ein aus mehreren Zellen gebildeter Mittelwert als gültige Größe für die Verlagerung angesehen werden darf. Ob allerdings bei der Auswertung hinreichend vieler Einzelzellen auch eine Aussage über die Streuung der Verlagerung möglich ist - HAUPT (1959) betrachtet dieses als einen Vorteil der direkten Methode - muß für jedes Objekt neu überprüft werden, da u.U. weniger die Varianz der Verlagerung als die Ungenauigkeit der Beobachtung die ermittelte Meßgröße beeinflusst.

Zum anderen ist es schwierig, im nicht-stationären Zustand, z.B. während des Schwachlicht- oder Starklicht-Bewegungsablaufes, eine hinreichend große Anzahl von Zellen zu erfassen, da sich die Verhältnisse ständig ändern. Photographische Methoden, die hierfür eine Lösung anböten, sind aus den einleitend erwähnten Gründen nur bedingt einsetzbar. Der besondere Vorteil des in dieser Arbeit beschriebenen indirekten Verfahrens liegt dagegen in der Möglichkeit der gleichzeitigen visuellen Verfolgung des Bewegungsvorganges, sowie in der Erfassung von sehr geringen Lageveränderungen.

Natürlich gehen bei dem indirekten Verfahren auch solche Transmissionsänderungen, die sich durch eine Schwellung oder Kontraktion der Plastiden ergeben, in die Meßwerte ein. Ohne die Möglichkeit solcher Effekte ausschließen zu wollen, können sie nach unseren Beobachtungen, zumindest bei Dictyota, im Vergleich zu den Transmissionsänderungen, die durch die Chromatophorenbewegung verursacht werden, vernachlässigt werden.

Des weiteren können natürlich Transmissionsänderungen auch durch Pigmentsynthese oder Ausbleichen hervorgerufen werden. Diese Veränderungen, die, wenn überhaupt, nur in der Anfangsphase eines Versuches auftreten, zeigen einerseits bei Dictyota einen im Vergleich zu dem meistens verwendeten 4-stündigen Starklicht-/Schwachlicht-Cyclus langsamen Verlauf und können andererseits leicht erfaßt werden, da sie sich in einer Versetzung der "Basislinie", des Schwachlicht-Transmissions-Bezugswertes, äußern.

Da sich für das indirekte Verfahren, das zunächst an einer Reihe von Versuchsobjekten, u.a. Mnium, Hookeria und Funaria, erfolgreich getestet wurde, dünne Thalli als besonders günstig erwiesen, und sich die Umgebungsbedingungen während längerer Versuchszeiten am besten konstant halten lassen, wenn das Objekt sich in einem flüssigen Medium befindet, wurde als Untersuchungsobjekt eine Meeresalge, die Braunalge Dictyota dichotoma verwendet. Außerdem wurde eine Durchflußküvette mit ange-

koppeltem Umpump-System eingesetzt, um somit die Bedingungen während des Versuches den natürlichen Verhältnissen möglichst anzugleichen. Bei den von älteren Autoren verwendeten Objektträgerpräparaten führt der fehlende Gasaustausch sehr schnell zu anaeroben Verhältnissen, was Veränderungen im Versuchsobjekt zur Folge haben kann. Das hier beschriebene Verfahren gestattet Versuchszeiten von 50 Tagen und mehr.

Bei Versuchen, die sich über eine längere Zeit erstrecken, sind allerdings einige Anmerkungen notwendig. Es zeigte sich, daß bei denjenigen Objekten, die bei der Anzucht einem tagesperiodischen Licht- und Temperaturwechsel ausgesetzt waren (Standort am Nordost-Fenster), eine deutliche Verminderung der Transmissionsänderung während des Versuches auftrat. Objekte, die unter konstanten Licht- und Temperaturbedingungen aufwuchsen, wiesen dagegen einen fast unveränderten Verlauf der Transmissionsänderung auf. Einige mögliche Ursachen hierfür sind im folgenden diskutiert.

1. Schädigung

Die Transmissionsabnahme durch Schädigung ist auszuscheiden, da Objekte nach solchen Versuchen ein "normales" Aussehen zeigen und ohne Schwierigkeiten erneut in Kultur genommen werden können.

2. Ausbleichen der Chromatophoren

Obwohl Veränderungen des Pigmentgehaltes während der Versuche häufig zu beobachten sind, können diese ebenfalls

als Ursache ausgeschlossen werden: die Abnahme der Reaktionsamplitude war auch in solchen Fällen feststellbar, in denen eine Pigmentsynthese und damit eine Zunahme der Grundabsorption im Thallus auftrat.

3. Ermüdung

Das Phänomen der "Ermüdung" (FETZER 1963; HAUPT und FETZER 1964) spielt hierbei offensichtlich eine untergeordnete Rolle. Die Tatsache, daß im Ablauf eines Versuches vereinzelte Phaeoplasten nicht mehr an der lichtinduzierten Verlagerung teilnehmen und entweder in der Randstellung oder in der Fläche verharren, würde für eine solche Abnahme der Transmissionsänderung sprechen. Nach unseren Beobachtungen traten solche Effekte erst 15 bis 20 Tage nach Versuchsbeginn ein, während die Abnahme der Reaktionsamplitude schon nach 3 bis 6 Tagen feststellbar war.

4. Karyotaxis

In dem Abschnitt IV.1.21 und IV.4.1 wurde bereits dargelegt, daß die Lage des Kernes der Speicherzellen von entscheidendem Einfluß auf die Bewegungsfähigkeit der Chromatophoren im Cortical-Zellbereich ist. Plastiden in solchen Cortical-Zellen, die sich in unmittelbarer Nähe eines Kernes der Speicherzellen befinden, reagieren nicht oder kaum auf einen Lichtreiz: sie verbleiben in der Schwachlichtlage. Darüberhinaus zeigt sich, daß auch die an den Speicherzellkern angelagerten Plastiden einen ähnlichen Einfluß wie der Kern selbst ausüben:

eine bestimmte geometrische Anordnung von Kern und angelagerten Plastiden findet sich als ähnliche Anordnung nicht-reagierender Zellen im Corticalbereich wieder. Diese Beobachtungen, die durch die Mikrophotographien in Abb. 31 und Abb. 32 veranschaulicht werden, lassen, für sich gesehen, noch keine Deutung der Abnahme der Transmissionsänderung zu. Es ist jedoch noch ein weiteres Phänomen zu berücksichtigen: Dunkelheit führt nach unseren Beobachtungen zu einer dichteren Packung von Kern und angelagerten Plastiden, während Schwachlicht oder auch Starklicht im Bereich der durchgeführten Untersuchungen (6.000 bis 8.000 Lux), nur eine lose Ansammlung bewirkt. Es ist somit, wie oben beschrieben, die Anzahl reagierender Corticalzellen nach einer Dunkelphase größer als nach einer Schwachlicht-/Starklicht-Phase.

In Kulturen, die unter rhythmisch wechselnden Lichtbedingungen kultiviert wurden, ist eine Zwischenstellung zu finden; die in den Speicherzellen befindlichen Kerne und Plastiden sind zwar nicht so dicht gepackt, wie es nach völliger Dunkelheit der Fall wäre, aber auch nicht so lose angeordnet wie im Schwachlicht. Erst die experimentelle Behandlung im Schwachlicht-/Starklicht-Wechsel führt zu einer sehr losen Packung, wobei sich einzelne Plastiden sogar gänzlich aus dem Paket herauslösen. Dieses führt somit zu einer Abnahme der Transmissionsänderung. Wird dagegen der Dunkel-Schwachlicht-Cyclus auch während des Experimentes beibehalten, so dürfte keine Abnahme der Transmissionsänderung zu finden sein. Die Abb. 66

bestätigt die Richtigkeit dieser Annahme.

Gerade bei der Diskussion dieser Frage wird der Vorteil der indirekten Methode bei simultaner visueller Kontrolle der Vorgänge im Meßfeld deutlich, wobei die räumliche Fixierung des Thallus und die Größenzuordnung von Meßfeld und Beleuchtungsfeld von besonderer Wichtigkeit sind.

Die Betrachtung des Bewegungsablaufes der Schwachlicht- und Starklicht-Reaktion ergab deutliche Unterschiede in der Verlagerungsgeschwindigkeit (Abb. 34 und Abb. 36). ZURZYCKA u. ZURZYCKI (1950) hatten an Lemna Unterschiede ähnlicher Größe ermittelt, wofür HAUPT (1959) methodische Fehler, insbes. wechselnde Temperaturverhältnisse während des Versuchsablaufes, verantwortlich macht (s.a. HAUPT und BOCK 1962). Bei dem in dieser Arbeit beschriebenen System konnte jedoch davon ausgegangen werden, daß die Temperatur des Objektes während der Schwachlicht- und der Starklicht-Phase auf Bruchteile von Celsiusgraden konstant gehalten wurde, da das Versuchsmaterial zum temperaturstabilen Außenraum hin nur durch den geringen Wärmewiderstand eines Deckglases getrennt war, im Küvetteninnenraum hingegen ständig vom ebenfalls temperaturkonstanten Nährmedium benetzt wurde.

Ob verschiedene Bewegungsmechanismen für solche Unterschiede (4,3 : 1) in der Kinetik verantwortlich sind, muß offenbleiben.

VI. Zusammenfassung

An der Braunalge *Dictyota dichotoma* wird die lichtinduzierte Chromatophorenbewegung im Weißlicht mit Hilfe eines Einstrahl-Mikrophotometers untersucht. Die Bewegung wird über die Transmissionsänderung erfaßt, die sich aus der Rand- bzw. Flächenlage der Plastiden in einer Zelle ergibt. Die Transmissionsänderungen werden kontinuierlich registriert. Das Versuchsobjekt befindet sich in einer Durchflußküvette unter nahezu physiologischen Bedingungen.

An der lichtinduzierten Chromatophorenverlagerung nehmen nicht alle Zellbereiche in einem Thallus gleichmäßig teil. Corticalzellen in unmittelbarer Nähe des Kernes der Speicherzellen reagieren nicht.

Die Stark- und Schwachlichtbewegung weisen einen ähnlichen, aber entgegengesetzten Zeitverlauf auf. Ein Vergleich der Verlagerungsgeschwindigkeit ergibt für die Schwachlichtbewegung während der ersten Versuchstage einen steileren Verlauf als für die Starklichtbewegung. Die Dauer einer Einzelreaktion beträgt durchschnittlich 4 Stunden.

Die Chromatophorenverlagerung ist eine Funktion der Intensität des eingestrahlten Lichts. Die extreme Schwachlichtlage ist mit Beleuchtungsstärken zwischen 500 und 2.500 Lux, die extreme Starklichtlage zwischen 12.000 und 25.000 Lux zu erreichen. Ebenso sind bei entsprechenden Beleuchtungsstärken Zwischenstellungen der Chromatophoren möglich. Das Maximum der Reizbeantwortung liegt

zwischen 5.000 und 15.000 Lux. Hierbei wurde die Unterschiedsschwelle mit 3,8% bestimmt.

Aufgrund der Durchflußkivette konnten Langzeitversuche über einen Zeitraum von mehr als 50 Tagen durchgeführt werden.

Unter bestimmten Voraussetzungen tritt bei der Chromatophorenverlagerung eine circadiane Rhythmik auf. Dieses gilt für Objekte, die unter tagesperiodisch wechselnden Licht- und Temperaturbedingungen kultiviert wurden. Die Länge der freilaufenden Periodik beträgt 26 bis 31 Stunden. Die Oszillationen äußern sich als Amplituden- und als Geschwindigkeitsschwankungen. Objekte aus Dauerlichtkulturen hingegen zeigen keine Rhythmik. Diese läßt sich jedoch durch drei im Abstand von 12 Stunden gegebene Dunkelphasen von 12-stündiger Dauer induzieren. Ebenso wirkt ein Temperatursprung induzierend. Bei Anwesenheit äußerer Zeitgeber in Form eines 16 : 8 stündigen Licht-Dunkel-Wechsels liegt das Maximum der Transmissionsänderung ca. 10 bis 14 Stunden nach Einsatz der Lichtphase.

Unter periodisch wechselnden Lichtbedingungen kultivierte Objekte weisen während der ersten Versuchstage eine Amplitudenabnahme der Transmissionsänderung auf. Nach einer Dunkelphase stellt sich die Amplitude fast wieder auf den Ausgangswert ein. Die Amplitudenabnahme ist auf eine Ausbreitung des Einflusses des Kernbereiches der Speicherzellen auf die Corticalzellen zurückzuführen.

VII. Literatur

- Babuskin, L.N.: Die Adaptation des phototaktischen Apparates der Chloroplasten an die Lichtintensität.
Dokl. Akad. Nauk SSSR. 102, 1215-1218 (1955)
- Babuskin, L.N.: Das Aktionsspektrum der Chloroplasten-Phototaxis.
Dokl. Akad. Nauk SSSR. 103, 333-335 (1955)
- Belsky, M.M., P.A. Siegenthaler and L. Packer: Evidence for conformational changes in Euglena chloroplasts.
Pl. Physiol. 40, 290-293 (1965)
- Biebl, R.: Lichttransmission und Chloroplastenbewegung.
Flora 141, 163-177 (1954)
- Biebl, R.: Tagesgänge der Lichttransmission verschiedener Blätter.
Flora 142, 280-294 (1955)
- Böhm, J.A.: Beiträge zur näheren Kenntnis des Chlorophylls.
Sitzungsber. Akad. Wiss. Wien, Math.-naturwiss. Kl. 22, 479ff. (1856)
- Böhm, J.A.: Über die Ursache des abwechselnden Erbleichens und Dunkelwerdens der Blätter bei wechselnder Beleuchtung.
Sitzungsber. Akad. Wiss. Wien, Math.-naturwiss. Kl. 47 (II), 352ff. (1863)
- Britz, S.J. and H.H. Seliger: Endogenous and photoperiodic diurnal rhythms of in vivo light absorption and scattering in the green alga *Ulva lactuca* L.
Biol. Bull. 144, 12-18 (1973)
- Bünning, E.: Die physiologische Uhr.
Springer-Verlag, Berlin.Göttingen.Heidelberg (1963)
- Clayton, R.K.: Studies in the phototaxis of *Rhodospirillum rubrum*. I. Action spectrum, growth in green light and Weber Law adherence.
Arch. Mikrobiol. 19, 107-124 (1953a)

- Clayton, R.K.: Studies in the phototaxis of *Rhodospirillum rubrum*. II. The relation between phototaxis and photosynthesis.
Arch. Mikrobiol. 19, 125-140 (1953b)
- Clayton, R.K.: Phototaxis of purple bacteria.
In: W. Ruhland (Ed.) Handbuch der Pflanzenphysiologie, 17/I, 371-387, Springer Verlag, Berlin, Göttingen, Heidelberg (1959)
- Donbauer, F., H. Lucius und G. Negele: Rechenverstärkereigenschaften; Messungen, Stabilisierungen, Sonderanwendungen.
Elektronik 15 (1966)
- Fetzer, J.: Über die Beteiligung energieliefernder Stoffwechselprozesse an den lichtinduzierten Chloroplastenbewegungen von *Mougeotia*.
Z. Bot. 51, 468-506 (1963)
- Flohrs, H. und W. Haupt: Tagesperiodische Empfindlichkeitsschwankungen der lichtinduzierten Chloroplastenbewegung von *Mougeotia*.
Z. Pflanzenphysiol. 65, 65-69 (1971)
- Hahn, H.: Typische Schaltungen mit Operationsverstärkern und Funktionsmoduln.
Bauelemente der Elektrotechnik 41, (1970)
- Haupt, W.: Chloroplastenbewegung.
In: W. Ruhland (Ed.) Handbuch der Pflanzenphysiologie, 17/I, 277-317, Springer Verlag, Berlin, Göttingen, Heidelberg (1959)
- Haupt, W.: Die Chloroplastendrehung bei *Mougeotia*. - Die Induktion der Schwachlichtbewegung durch linear polarisiertes Licht.
Planta 55, 465-479 (1960)
- Haupt, W.: Über die Lokalisierung des Phytochroms in der *Mougeotia*-Zelle.
Beiträge zur Physiologie und Morphologie der Algen, Neue Folge 1, 116-122 (1962)

- Haupt, W. und I. Schönfeld: Über das Wirkungsspektrum der "negativen Phototaxis" der Vaucheria-Chloroplasten.
Ber. dtsch. bot. Ges. 75, 14-23 (1962)
- Haupt, W. und G. Bock: Die Chloroplastendrehung bei Mougeotia. IV. Die Orientierung der Phytochrom-Moleküle im Cytoplasma.
Planta 59, 38-48, (1962)
- Haupt, W.: Photoreceptorprobleme der Chloroplastenbewegung.
Ber. dtsch. bot. Ges. 76, 313-322 (1963)
- Haupt, W. and J. Fetzter: Energetics of the chloroplast-movement in Mougeotia.
Nature 201, 1048-1049 (1964)
- Haupt, W.: Perception of environmental stimuli orienting growth and movement in lower plants.
Ann. Rev. Plant Physiol. 16, 267-290 (1965)
- Haupt, W. und R. Gärtner: Die Chloroplasten-Orientierung von Mesotaenium in starkem Licht.
Naturwiss. 54, 411-412 (1966)
- Haupt, W.: Phototaxis in Plants.
Internat. Rev. Cytol. 19, 267-299 (1966a)
- Haupt, W.: Die Inversion der Schwachlichtbewegung des Mougeotia-Chloroplasten: Versuche zur Kinetik der Phytochrom-Umwandlung.
Z. Pflanzenphysiol. 54, 151-160 (1966b)
- Haupt, W. und M. Weisenseel: Chloroplastenbewegung bei Lemna trisulca in polarisiertem Licht.
Naturwiss. 54, 48-49 (1967)
- Haupt, W. und N. Heymann: Versuche zur Mechanik der Chloroplastenbewegung.
Z. Pflanzenphysiol. 57, 68-71 (1967)
- Haupt, W.: Die Orientierungsbewegung der Chloroplasten.
Biol. Rundschau 6, 121-136 (1968)

Haupt, W.: Orientierungsbewegung der Chloroplasten.

Fortschritte der Botanik 31, 164-171 (1969)

Haupt, W. and E. Schönbohm: Light-oriented chloroplasts movements.

In: P. Halldal (Ed.) Photobiology of Microorganisms, pp. 283-307, Wiley-Interscience, London, New York, Sidney, Toronto (1970)

Itoh, M., S. Izawa and K. Shibata: Shrinkage of whole chloroplasts upon illumination.

B.B.A. 66, 319-327 (1963)

Kaelin, W.: Review of operational amplifier principles.

Fairchild Contr. Application Bulletin, dec. 1968

Küster, E.: Über den Einfluß von Lösungen verschiedener Konzentrationen auf die Orientierungsbewegungen der Chromatophoren.

Ber. dtsh. bot. Ges. 23, 254-256 (1905)

Küster, E.: Über den Einfluß wasserentziehender Lösungen auf die Lage der Chromatophoren.

Ber. dtsh. bot. Ges. 24, 255-259 (1906)

Küster, E.: Über Inhaltsverlagerungen in plasmolysierten Zellen.

Flora (Jena) 100, 267-287 (1910)

Manton, I. and H.A.v.Stosch: Observations on the fine structure of the male gamete of the marine centric diatom *Lithodesmium undulatum*.

Journ. Royal Microscop. Soc. 85, 119-134 (1965)

Mayer, F.: Lichtinduzierte Chloroplasten-Verlagerung bei *Selaginella martensii*.

Z. Bot. 52, 346-381 (1964)

Murakami, S. and L. Packer: Light induced changes in the conformation and configuration of the thylakoid membranes of *Ulva* and *Porphyra* chloroplasts in vivo. Plant Physiol. 45, 289-299 (1970)

- Nultsch, W. and D.P. Häder: Bestimmung der photo-phobotaktischen Unterschiedsschwelle bei *Phormidium uncinatum*.
Ber. Dtsch. Bot. Ges. 83, 185-192 (1970)
- Packer, L.: Structural Changes Correlated with Photochemical Phosphorylation in Chloroplast Membranes.
B.B.A. 75, 12-22 (1963)
- Philbrick Researches: Philbrick Application Manual-Computing Amplifiers.
G.A. Philbrick Researches, Inc. (1966)
- Pittendrigh, C.S.: On temporal organization in living systems.
Harvey Lect. Ser. 56, 93-125 (1961)
- Roberts, S.K.: Circadian activity rhythms in cockroaches. II. Entrainment and phase shifting.
J. cell. comp. Physiol. 59, 175-186 (1962)
- Ruddat, M.: Versuche zur Beeinflussung und Auslösung der endogenen Tagesrhythmik bei *Oedogonium car-diacum* Wittr.
Z. Bot. 49, 23-46 (1960)
- Schlegel, H.-G.: Vergleichende Untersuchungen über die Lichtempfindlichkeit einiger Purpurbakterien.
Arch. Prot. 101, 69-97 (1956)
- Schönbohm, E.: Untersuchungen über die Starklichtbewegung des Mougeotia-Chloroplasten.
Z. Bot. 51, 233-276 (1963)
- Schrammeck, J.: Untersuchungen über die Phototaxis der Purpurbakterien.
Beitr. Biol. Pflanz. 22, 315-379 (1934)
- Seitz, K.: Das Wirkungsspektrum der Photodinese bei *Elodea canadensis*.
Protoplasma (Wien) 58, 621-640 (1964)
- Seitz, K.: Wirkungsspektren für die Starklichtbewegung der Chloroplasten, die Photodinese und die licht-

- abhängige Viskositätsänderung bei *Vallisneria spiralis* ssp. *torta*.
Z. Pflanzenphysiol. 56, 246-261 (1967)
- Seitz, K.: Die Starklichtbewegung der Chloroplasten von *Vallisneria* in Abhängigkeit von Hemmstoffen der oxydativen Phosphorylierung.
Z. Pflanzenphysiol. 63, 401-407 (1970)
- Senn, G.: Die Gestalts- und Lageveränderungen der Pflanzen-Chromatophoren.
Engelmann, Leipzig (1908)
- v. Stosch, H.A. und G. Drebes: Entwicklungsgeschichtliche Untersuchungen an zentrischen Diatomeen IV.
Helgol. wiss. Meeresunters. 11, 209-257 (1964)
- Strasburger, E., F. Noll, H. Schenck u. A.F.W. Schimper: Lehrbuch der Botanik.
Gustav Fischer Verlag, Stuttgart (1971)
- Tobey, G., J. Graeme and L. Huelsman: Operational Amplifiers; Design and Application.
McGraw-Hill, New York (1971)
- Voerkeel, S.H.: Untersuchungen über die Phototaxis der Chloroplasten.
Planta 21, 156-205 (1934)
- Wassermann, L.: Die Auslösung endogen-tagesperiodischer Vorgänge durch einmalige Reize.
Planta 53, 647-669 (1959)
- Weissensteil, M.: Vergleichende Untersuchungen zum Einfluß der Temperatur auf lichtinduzierte Chloroplastenverlagerungen. I. Die Wirkung verschiedener Lichtintensitäten auf die Chloroplastenanordnung und ihre Abhängigkeit von der Temperatur.
Z. Pflanzenphysiol. 59, 56-69 (1968a)
- Weissensteil, M.: Vergleichende Untersuchungen zum Einfluß der Temperatur auf lichtinduzierte Chloroplastenverlagerungen. II. Die statistische Bewegungsgeschwindigkeit der Chloroplasten und ihre Abhängig-

keit von der Temperatur.

Z. Pflanzenphysiol. 59, 153-171 (1968b)

Zeiss, C.: Hochleistungs-Mikroskopierleuchte- Gebrauchsanleitung

Datenblatt G 40-340-d

Zurzycka, A. and J. Zurzycki: The influence of temperature on the phototactic movements of chloroplasts.

Acta Soc. Bot. Polon. 20, 665-680 (1950)

Zurzycka, A. and J. Zurzycki: Cinematographic studies on phototactic movements of chloroplasts.

Acta Soc. Bot. Polon. 26, 177-206 (1957)

Zurzycki, J. and A. Zurzycka: Kinematographic method of chloroplast movements analysis.

Acta Soc. Bot. Polon. 22, 679-687 (1953)

Zurzycki, J.: Studies on the phototactic movements of chloroplasts.

Acta Soc. Bot. Polon. 23, 279-288 (1954)

Zurzycki, J.: Chloroplasts arrangement as a factor in photosynthesis.

Acta Soc. Bot. Polon. 24, 27-63 (1955)

Zurzycki, J.: The destructive effect of intense light on the photosynthetic apparatus.

Acta Soc. Bot. Polon. 26, 157-176 (1957)

Zurzycki, J.: Studies on the centrifugation of chloroplasts in Lemna.

Acta Soc. Bot. Polon. 29, 385-393 (1960)

Zurzycki, J.: An interference-filter- monochromator system for the irradiation of microscopic objects

Acta Soc. Bot. Polon. 30, 491-503 (1961a)

Zurzycki, J.: The influence of chloroplast displacement on the optical properties of leaves.

Acta Soc. Bot. Polon. 30, 503-527 (1961b)

Zurzycki, J.: The mechanism of the movement of plastids.

In: W. Ruhland (Ed.), Handbuch der Pflanzenphysio-

logie 17/II, 940-978, Springer Verlag, Berlin, Göttingen, Heidelberg (1962)

Zurzycki, J.: Investigations on the contraction of chloroplasts in *Mnium undulatum* (L.) Weis. *Protoplasma* 58, 458-482 (1964)

Zurzycki, J.: Investigations on the contraction of chloroplasts in *Mnium undulatum* (L.) Weis.

II. Studies on isolated chloroplasts.

Acta Soc. Bot. Polon. 35, 281-291 (1966)

Zurzycki, J.: Properties and localization of the photo-receptor active in displacements of chloroplasts in *Funaria hygrometrica*. I. Action spectrum.

Acta Soc. Bot. Polon. 36, 133-142 (1967)

Zurzycki, J.: Changes of the trans-membrane potential of the leaf cell of *Funaria hygrometrica* under influence of light.

Acta Soc. Bot. Polon. 37, 519-531 (1968)

Zurzycki, J. and Z. Lelatko: Action dichroism in the rearrangement of chloroplasts in various plant species.

Acta Soc. Bot. Polon. 38, 493-506 (1969)

Zurzycki, J.: Primary reactions in the chloroplast rearrangements.

Acta Protozool. 11, 189-200 (1972)

Schriftenverzeichnis.

- Pfau, J.: Lightweight Regulated End Point H.V. Capacitor Charging Supply.
Rev. Sci. Instr. 40, 1243 (1969)
- Pfau, J., K. Werthmüller and H. Senger: Permanent Automatic Synchronization of Micro Algae Achived by Photoelectrically Controlled Dilution.
Arch. Microbiol. 75, 338-345 (1971)
- Senger, H., J. Pfau and K. Werthmüller: Continuous Automatic Cultivation of Homocontinuous and Synchronized Micro Algae.
In: D.M. Prescott (Ed.) Methods in Cell Physiology V, 301-323. Academic Press, New York, London. (1972)
- Pfau, J. und J. Sondermann: Eine wartungsfreie Bidestillationsapparatur für detergentienfreies Wasser.
GIT Fachz. Lab. 16, 1149-1152 (1972)
- Pfau, J. und H. Senger: Über die Länge der Entwicklungszyklen in homokontinuierlichen Kulturen von *Scenedesmus obliquus*.
Ber. dtsch. Bot. Ges. 85, 409-413 (1972)
- Teile der vorliegenden Dissertation wurden auf folgenden Tagungen bzw. in folgenden Schriften publiziert:
- Pfau, J., G. Throm and W. Nultsch: Recording Microphotometer for Determination of Light-Induced Chromatophore Movements in Brown Algae.
In: G.O. Schenck (Ed.) Book of Abstracts, 179.
VI International Congress on Photobiology 21.-25.8. 1972, Bochum
- Pfau, J., G. Throm and W. Nultsch: Recording Microphotometer for Determination of Light Induced Chromatophore Movements in Brown Algae.
Z. Pflanzenphysiol. (Im Druck)

L e b e n s l a u f .

Name	P F A U
Vorname	Jürgen
1936	geboren am 10. Dezember in Düsseldorf als Sohn des Maschinenschlossers Paul Pfau und seiner Ehefrau Hilde, geb. Pützinger.
1943 - 1948	Besuch der Volksschulen in Halberstadt und Düsseldorf.
1948 - 1957	Besuch des Städtisch neusprachlichen Gymnasiums Düsseldorf - Gerresheim. Reifeprüfung im März 1957
1957	Sechs Monate praktischer Arbeit in der Düsseldorfer Waggonfabrik AG.
Nov. 1957	Beginn des Ingenieur-Studiums der Fach- richtung Elektrotechnik/Nachrichten- technik an der Rheinisch-Westfälischen Technischen Hochschule Aachen .
Dez. 1963	Diplom-Hauptprüfung an der TH Aachen.
1964	Tätigkeit in der Projektierungsabtei- lung der Stromnetzbetriebe der Stadt- werke Düsseldorf.
1965 - 1969	Wissenschaftlicher Angestellter am Physikalisch-Chemischen Institut der Philipps-Universität Marburg/L.
Seit Okt. 1969	Wissenschaftlicher Angestellter und Doktorand am Botanischen Institut der Philipps-Universität Marburg/L.



